





OFFICE OF THE CHIEF MEDICAL EXAMINER
OF THE CITY OF NEW YORK

* * *

This personal collection of medicolegal volumes was
donated to the new Library of the Office of the
Chief Medical Examiner of the City of New York

by

Doctor George S. Strassmann
formerly Professor of Legal Medicine in Breslau
in memory of his father,

Doctor Fritz Strassmann
former Professor of Legal Medicine
in Berlin, Germany

and as an expression of friendship for

Doctor Milton Helpern
Chief Medical Examiner
City of New York

and

Professor of Forensic Medicine
New York University
Post Graduate Medical School

B. Therman

Die forensische Blutuntersuchung.

Ein Leitfaden für Studierende,
beamtete und sachverständige Ärzte und
für Kriminalisten.

Von

Dr. Otto Leers,

Assistent der Königlichen Unterrichtsanstalt für Staatsarzneikunde
an der Universität Berlin.

Mit 30 Figuren im Text und 3 Tafeln.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1910.

RA

1061

L4

Alle Rechte,
insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen,
vorbehalten.

Meinem Lehrer und Förderer
Herrn Geheimen Medizinalrat
Professor F. Strassmann.

202
6/23/69



Digitized by the Internet Archive
in 2018

<https://archive.org/details/dieforensischebl00leer>

Vorwort.

Das vorliegende Werkchen, eine monographische Darstellung der forensischen Blutuntersuchung, enthält die Erfahrungen, die ich als Leiter des Laboratoriums der Königlichen Universitäts-Unterrichtsanstalt für Staatsarzneikunde in mehrjähriger Bearbeitung forensischer Aufträge sammeln und im Unterricht weitergeben konnte. Das reiche Material, welches uns aus allen Gauen zugeht, beweist, daß das Vertrauen in die Sicherheit und Schnelligkeit der Untersuchung ständig gewachsen und eine Vermehrung des Bedürfnisses eingetreten ist, welche die forensische Blutuntersuchung einen immer größer werdenden Raum unter den gerichtsärztlichen Aufgaben einnehmen läßt.

Das Buch soll den Fachmann über die von uns geübten Methoden orientieren, den Lernenden beim Unterricht geleiten, nicht den Unterricht ersetzen; man lernt ja auch die Technik der klinischen Untersuchungsmethoden nicht lediglich aus Büchern. Für denjenigen, der den Quellen nachgehen will, habe ich am Schlusse Literaturangaben beigelegt, während ich sie im Text, wo sie störend wirken können, möglichst eingeschränkt habe. Vor allem sind die Arbeiten genannt, welche ihrerseits Literaturnachweise enthalten. Von einem Wortregister habe ich abgesehen; der Index ist so ausführlich gehalten, daß jeder das Gesuchte wohl finden dürfte. Daß ich hie und da auch Theoretisches eingefügt und Methoden besprochen habe, deren Bewährung

noch weitere Prüfungen sicherstellen müssen, gebot die Vollständigkeit des Werkes; sie bieten ja auch die Anregung zum Weiterbauen. Einige Beschränkungen habe ich mir dennoch auferlegt. Das Gebiet der Fleisch- und Nahrungsmitteluntersuchung ist der U h l e n h u t h schen Schule eigenstes Feld und von dieser mehrfach in monographischen Darstellungen erschöpfend behandelt worden. Das gleiche gilt für die Serodiagnose der Syphilis, über welche u. a. vor kurzem erst in dem Verlage von J u l i u s S p r i n g e r Monographien von B r u c k und M u l z e r erschienen sind. Von diesen Gegenständen habe ich daher nur das für den Gerichtsarzt zur Orientierung Notwendige gebracht.

Die farbige Tafel II stammt von der kunstreichen Hand des Herrn Kunstmalers G. H e l b i g in Schöneberg; den Firmen C. Z e i ß in Jena und E. L e i t z in Wetzlar bin ich zu Dank verpflichtet für die bereitwillige Überlassung der Galvanos ihrer Apparate, der Verlagsbuchhandlung J u l i u s S p r i n g e r für die sorgfältige Ausstattung des Buches.

Berlin, im Februar 1910.

Otto Leers.

Inhaltsverzeichnis.

Allgemeiner Teil.

	Seite
Aufsuchen, Entnehmen und Asservieren der Blutspuren am Tatort .	1
Negative Resultate.	4
Erkennung der Blutspur (Farbe, Dichroismus)	6
Prädilektionsstellen.	7
Differentialdiagnose Blut	7
Form der Blutspur (Spritz-, Tropf-, Wisch-, Klatsch-, Tupfflecke und Abdrücke)	8
Abzeichnen, Photographieren, Durchpausen.	12
Beimengungen und ihr Wert	16
Bestimmung des Alters der Blutspur:	
Aus Farbe und Aussehen (Farbenskalen)	17
Aus der Löslichkeit	17
Identität zweier Blutspuren:	
Individuelle Blutdifferenzierung	18
Geschlechtsdifferenzierung	19
Rassendifferenzierung	19
Den Blutnachweis störende Einflüsse:	
Auswaschung, Ausseifung	19
Atmosphärische Einflüsse	20
Erhitzung	20
Fäulnis und Schimmelbildung	20
Rost und andere chemische Einflüsse	21

Spezieller Teil.

Der Nachweis des Blutfarbstoffes.

Die Vorproben	22
1. Die Vorprobe mit Wasserstoffsuperoxyd	23
2. Die Vorprobe mittels Guajaktinktur und Terpentinöl	25
3. Die Vorprobe mit Rieglers Reagens	28
4. Die Vorprobe mit Benzidin	29
5. Die Vorprobe mit Meyers Reagens	30

	Seite
Die Kristallproben	31
Hämoglobinkristalle	31
Hämatinkristalle	32
Hämochromogenkristalle	37
Die Spektralproben	40
Der Spektralapparat	41
Die Reduktion	44
Die forensisch wichtigen Blutspektren	45
Oxyhämoglobin	46
Methämoglobin	46
Sulfhämoglobin	48
Reduziertes Hämoglobin	48
Kat- und Parahämoglobin	48
Hämatin	49
Hämochromogen	50
Hämatoporphyrin	50
Kohlenoxydhämoglobin	51
Cyan-(Met-) Hämoglobin	52
Cyanhämatin	52
Photomethämoglobin	52
Cyanhämochromogen	52
Lösungsmittel zur spektroskopischen	
Blutuntersuchung.	53
Darstellung des Oxyhämoglobin-Hämoglobin-Spektrums , . .	56
Darstellung des Hämatin-Hämochromogen-Spektrums	56
Darstellung des Hämatoporphyrin-Spektrums	58
Die Mikrospektroskopie	59
Der Mikrospektralapparat	59
Darstellung der Mikrospektren	61
Störungen des spektroskopischen Blutnach-	
weises und Ausschaltung derselben	63
Vermehrung der Schichtdicke	64
Vermehrung der Konzentration	64
Die Pyridinprobe (Leers)	64
Kossas Verfahren	66
Hämatoporphyrindarstellung nach Ziemke	67
„ nach Corin	67
„ nach Takayama	68
Hämochromogendarstellung nach Leers	68
Kristalldarstellung nach Corin	68
Die Spektrophotographie	69

Anhang: Die Blutuntersuchung am Obduktions- tisch:

bei Säure- und Alkalivergiftung	69
bei Cyankalivergiftung.	70
bei Vergiftung mit chlorsaurem Kali	70
bei Kohlenoxydvergiftung	70
spektroskopische CO-Probe	72
chemische CO-Proben.	73

Der Nachweis der Blutzellen.

Quellungsmittel	76
Größe und Form der roten Blutkörperchen	80
Kerndarstellung	81
Mikroskopie im reflektierten Licht (F l o r e n c e)	82
Störungen des mikroskopischen Blutnachweises	87
Differentialdiagnostisches	88
Mikroskopie der Beimengungen	89
M o s e r s Methode	90
K o c k e l - S c h m o r l s Methode	90

Der Nachweis der Blutart.

durch B a r r u e l s Methode	91
durch die Hämoglobinkristallproben	91
durch die Größenmessung und Kerndarstellung der Blutkörperchen.	92
durch die neutrophilen Granula der Leukozyten	92
durch die Resistenz des Blutfarbstoffs gegen Alkalien.	92
durch das katalytische Ferment (v a n I t a l l i e)	93
durch die Agglutinationsproben (individuelle Blutdifferenzierung)	93

durch die biologische Serumpräzipitinreaktion nach U h l e n h u t h und

W a s s e r m a n n - S c h ü t z e	99
Die Grundlagen derselben	99
Die zur Vorbehandlung geeignete Tierart	103
Das Material zur Vorbehandlung	105
Die Arten der Vorbehandlung	109
Die Phasen der Antikörperbildung	114
Die Probeentnahme	115
Die Probeuntersuchung	116
Die Gewinnung des Antiserums	119
Die Klärung und Sterilisation des Antiserums	122
Opaleszenz	125
Autopräzipitation	125

	Seite
Die Bestimmung der Wertigkeit	126
Die Bestimmung der Artspezifität	129
Die Konservierung des Antiserums	131
Die Anstellung der biologischen Reaktion in der Praxis	137
Die Hauser'sche Kapillarprobe	140
Die forensische Beurteilung der Tragweite und der Fehlerquellen der biologischen Reaktion :	
Verwandtschaftsreaktionen und kreuzweise Immunisierung . .	143
Individuelle Blutdifferenzierung	145
Geschlechtsdifferenzierung	145
Rassendifferenzierung	145
Heterologe Trübungen und spezifische Absättigung	146
spezifische Löslichkeit	148
Präzipitoidhemmung.	149
Titerbestimmung	149
Die biologische Reaktion in Eiweißartge- mischen	150
Die Behinderung der biologischen Reaktion :	
durch Fäulnis	155
durch chemische Einflüsse	155
durch das Alter	155
durch Erhitzung (Hitzeantiserum)	156
Durch die Erythropräzipitinreaktion	157
Die Grundlagen derselben	157
Das Material zur Vorbehandlung	158
Die forensische Beurteilung der Reaktion	160
Anhang: Die biologische Untersuchung der Fleischarten und Nahrungsmittel mittels der Präzipitinreaktion.	160
Durch die Komplementbindungsreaktion (Hämolyse)	162
Die Grundlagen derselben (Komplement-Ambozeptor)	162
Die Methode von Deutsch	163
Die Methode von Bordet - Gengou bzw. Neißer - Sachs	164
Gang der forensischen Untersuchung mittels Komplementbindung	166
Die forensische Beurteilung der Reaktion	171
Anhang: Die Serodiagnose der Syphilis und ihre forensische Bedeutung	173

	Seite
Durch den Anaphylaxieversuch	179
Die Grundlagen desselben	180
Die Anstellung der Anaphylaxiereaktion	181
Die forensische Beurteilung derselben	183

Der quantitative Blutnachweis.

Bestimmung der Blutmenge:	
durch Wägungen	184
durch die Kolorimetrie	185
durch B r o z e i t s Verfahren	187
durch das spezifische Gewicht	188
durch die Präzipitinreaktion	189
Literatur	192

Allgemeiner Teil.

Das Aufsuchen, Entnehmen und Asservieren von Blutspuren am Orte der Tat ist im allgemeinen Sache des Untersuchungsrichters. Die Aufgabe des ärztlichen Sachverständigen beginnt gewöhnlich erst, nachdem ihm die Asservate zur Untersuchung und Begutachtung überwiesen worden sind. Mehr und mehr wird es jedoch Brauch, ihn auch schon zur ersten Inaugenscheinnahme zuzuziehen — wie das hier in Berlin stets der Fall ist — und aus manchen Gründen ist dies gewiß wünschenswert.

Schon am Tatort lassen sich aus der Zahl, der Ausbreitung, der Lage und Gruppierung der Blutspuren — der sog. Topographie der Spuren — für die Untersuchung wichtige Schlüsse ziehen, die sonst vielleicht verloren gehen oder zu einem Zeitpunkt zur Kenntnis des Sachverständigen kommen, wo er sie nicht mehr in dem gleichen Maße bei der Untersuchung verwerten kann. Zuweilen spricht sich der ganze Hergang der Tat in der Lage der Blutflecken aus, der Weg, den das Opfer oder der Täter genommen hat. Wichtige Anhaltspunkte geben die Spuren also auch für die Beantwortung der Frage, ob der Fundort der Leiche auch der Tatort ist.

Der Dominialschäfer J. wurde am 21. Juli 1909 abends von der Familie vermißt und seine Leiche mit einer schweren Kopfwunde, ausgestreckt, die Mütze auf der Brust, in einem Kartoffelfelde 20 Schritte von dem Schafstall gefunden. In diesem Schafstall fanden sich geringere Blutflecke an dem Fußende der in der Mitte desselben stehenden Hammelraufe; eine größere Lache im Stroh in der Mitte des Stalles und an der Wand, an der sich die blutigen Abdrücke mehrerer Finger der rechten Hand fanden. Die Spuren ließen vermuten, daß der Mann bei der Raufe niedergeschlagen worden sei; er war dann wahrscheinlich noch einige Schritte gewankt, vielleicht wieder aufgestanden, wobei er sich mit der

Hand gegen die Wand gestützt hatte, und war schließlich infolge des Blutverlustes an der Wand im Stroh liegen geblieben und dort verblutet. Später hatte der Täter dann erst unter dem Schutze der Nacht die Leiche aufs Feld gebracht, um den Verdacht von sich abzulenken. Die Verhandlung bestätigte den Sachverhalt in allen Punkten. Der Schäferknecht hatte den Schäfer, während er mit ihm die Raufe reinigte, als er sich in gebückter Stellung befand, niedergeschlagen und erst nachts aufs Feld hinausgeschleppt.

Die Blutspuren zu schützen und zu erhalten, bis sie durch photographische Aufnahme fixiert sind, oder die Sachlage durch die Untersuchungskommission festgestellt ist, ist natürlich von größter Wichtigkeit. Durch eine Dienstanweisung wird z. B. den Berliner Kriminalbeamten diese Sicherung von Fuß- und Blutspuren durch Überdecken mit Kisten, Töpfen, auf Steine gelegten Brettstücken und dgl. zur Pflicht gemacht.

Die Mitwirkung des Sachverständigen bei der photographischen Aufnahme der Situation am Tatort ist gewiß ebenso erwünscht, als sie bei der Entnahme der Blutspur häufig im Interesse der Untersuchung ist.

Grundsatz sollte allerdings sein, Blutproben an Ort und Stelle nicht vorzunehmen, sondern, wo dies eben möglich ist, den mit der Spur behafteten Gegenstand als solchen zu asservieren. So kann die Spur am sichersten erhalten bleiben. Die Größe des Gegenstandes sollte dem nicht entgegenstehen.

Kleinere Dinge (Papier, Holzstückchen, Späne, Erde, Gräser, Blätter, Stroh usw.) können in Schachteln oder Glasgefäßen bewahrt werden. Die Utensilientasche des Berliner Kriminaldienstes enthält dazu z. B. eine Anzahl gläserner Behältnisse in Form von Flaschen und Büchsen verschiedener Größe. Zur Aufnahme besonders feiner und empfindlicher Gegenstände führt sie verschließbare gläserne Röhrchen und aufeinander zu legende hohlgeschliffene Glasplatten mit sich (Niceforo-Lindenau).

Größere Gegenstände (Streichholzschachteln, Kämme und Bürstchen, Taschenmesser u. dgl.) sind, jedes Stück für sich, in reines weißes Aktenpapier fest einzuwickeln, zu verschnüren und zu signieren.

Eine unzweckmäßige Versorgung ist stets die Verpackung in Zeitungspapier. In einem

Fälle sollten Organteile auf die Zeichen eines Nahschusses untersucht werden. Da sie jedoch feucht in Zeitungspapier verpackt worden waren, hatte sich ihnen so viel Druckerschwärze mitgeteilt, daß eine Untersuchung auf Pulverschmauch unmöglich wurde.

Äxte, Hämmer und Ähnliches lassen sich auf ein Brett fest aufbinden, die Blutspur frei nach oben und mit Aktenpapier durch Heftzwecken oder Bindfadenbefestigung geschützt. Auch an größeren Gegenständen ist dieser Schutz unerläßlich, wenn sie zur Versendung kommen.

Kleidungsstücke sind so fest wie möglich zu verschnüren, damit nicht durch Reibung das Blut abbröckelt; auch hier kann die Spur durch eine Lage Watte, Holzwolle oder Seidenpapier noch besonders geschützt werden.

In die Erde gedrungenes Blut ist in seiner ganzen Ausdehnung und in reinen irdenen Töpfen oder emaillierten Eimern zu verwahren. Es kann von Wichtigkeit sein, die Menge des Blutes festzustellen (s. „Quantitativer Blutnachweis“).

Wo es nicht möglich ist, den ganzen Gegenstand zu asservieren, muß die Blutspur von der Unterlage sorgsam entfernt werden, so daß sie möglichst vollständig und unversehrt erhalten bleibt.

Ist sie noch f e u c h t , so gelingt dies leicht, indem man sie, nachdem sie vorher abgezeichnet oder photographiert ist, mit einer Pipette oder auch mit Fließpapier absaugt und in einem reinen Glasgefäß aufbewahrt.

T r o c k e n e S p u r e n , besonders an glatten, fettigen Flächen blättern leicht ab; sie können daher entweder mit physiol. (0,85 %) Kochsalzlösung erweicht und in derselben Weise entnommen werden oder — nach G r o ß — derart, daß man ein mit reiner Gummilösung bestrichenen Seidenpapier (Zigarettenpapier), solange dieses noch feucht ist, auf die Spur drückt. Das Papier nimmt die Blutspur an sich und kann mit ihr asserviert werden.

Die Auflösung mit Kochsalzlösung kommt besonders bei geneigten oder senkrechten Stein- oder Metallflächen in Frage. In diesem Falle kann man die Spur zuvor mit Wachs umranden, um ein Herabfließen der Blutlösung zu vermeiden (G r o ß).

Tapeten sind breit abzulösen, Holzteile abzumeißeln, Dielen auszusägen, Mauerkalk oder -mörtel breit abzuschlagen, immer

in möglichst weiter Entfernung von der Spur, um ihr Zerbröckeln zu vermeiden.

Erst in allerletzter Linie sollte man zum Abschaben der trockenen Blutspur greifen, da dabei erfahrungsgemäß ein Teil derselben verloren geht, und auch dann nur, wenn die Größe dieses gestattet, die Mitte derselben entfernen, die Konturen dagegen stehen lassen. Die Abschabung ist in weißem Aktenpapier aufzufangen, einzufalten, zu signieren und in einem Glasgefäß zu bewahren.

Daß auch andere mit der Blutspur angetrocknete Dinge (Insektenteile, Federn, Haare, Gewebs- und Stoffpartikel) ebenso sorgfältig zu entnehmen und zu asservieren sind, ist selbstverständlich, da sie der Untersuchung wichtige Fingerzeige geben können.

H. G r o ß erzählt den Fall, wo an einem Säbel eines Dragoners, der einem Manne den Kopf gespalten hatte, zwar kein Blut, wohl aber ein Grashalm gefunden wurde. Es ergab sich, daß der Säbel an taufeuchtem Grase gereinigt worden war. In einem anderen Falle waren es Hopfenhäarchen, die auf die Spur des Täters führten. G r o ß fügt hinzu, wie notwendig es ist, daß die Untersuchung sich nicht lediglich auf Blutspuren erstreckt, sondern auf alles, was auffällig und ungewöhnlich an dem Objekt ist.

„In dieser Richtung könne der Sachverständige aber nur dann ersprießlich wirken, wenn er den Sachverhalt in allen seinen kleinsten Einzelheiten kennt und vom Untersuchungsrichter zugezogen oder so genau als möglich über den ganzen Hergang unterrichtet wurde.“ Unter Umständen ist also die Auskunft zu erbitten; sie wird wohl nie verweigert werden.

Bevor ich an die Erörterung der eigentlichen Tätigkeit des Sachverständigen, die Untersuchung und Beurteilung der Blutspuren, gehe, muß ich einem wohl noch hie und da verbreiteten Irrtum entgegentreten. Dem Irrtum, daß die Kleider, die der Täter bei der Tat getragen, oder noch mehr das Instrument, welches er nachweislich benutzt hat, mit Blut befleckt sein m ü s s e n.

Es wird freilich nicht oft vorkommen, daß sich der Täter völlig entkleidet, um seine Kleider vor Blutspuren zu schützen — wie T a y l o r einen Fall berichtet — aber wenn der Schlag seit-

lich geführt wurde, wie es oft vorkommt, kann das Blut seitlich wegspritzen, ohne den Täter und sein Instrument zu treffen.

Vielfach verhindern die Kleidungsstücke des Ermordeten die Blutbefleckung.

In dem eingangs erwähnten Fall hatte der Täter, obschon er eine schwere blutende Kopfwunde bei J. erzeugt hatte, keine Blutspritzer davongetragen, da J. eine Mütze trug, und diese bei dem Schlag nicht durchgeschlagen wurde; sie zeigte nur an der Innenseite einen breiten, dicken Blutfleck, der Kopfwunde J.s entsprechend.

Glatte Messerklingen können so sauber von den Blutspuren durch Abwischen oder sofortiges Abspülen gereinigt werden, daß nichts mehr nachzuweisen ist.

Auch die Natur besorgt dieses Abspülen zuweilen. An einem Messer, welches noch in dem Rücken der Leiche steckend gefunden wurde, konnte kein Blut mehr nachgewiesen werden. Die Leiche hatte mehrere Monate im freien Felde gelegen, und zwar auf dem Gesicht, und der Regen hatte alles Blut ausgewaschen. (12. 10. 08.)

Daß frische Blutflecken durch reichliche Spülung in kaltem Wasser von den zur Tat benutzten Instrumenten und aus den bespritzten, befleckten Kleidungsstücken so gut wie gänzlich entfernt werden können, ist schon so allgemein bekannt, daß dieses Mittel, wenn genügend Zeit bleibt, sicher versucht wird. Auch Alaun, Kleesalz, Jodkali, Chlorkalk, Oxalsäure sind als Blutfleckentilger bekannt.

Es gehen uns denn auch mehr und mehr Objekte zu, an denen ein solcher Versuch gemacht worden ist, und sie sind vielfach so gründlich und mit so viel Verständnis gesäubert, daß es ganz besonderer Mittel bedarf, um den geringen und diffus verteilten Blutfarbstoff, den sie noch enthalten, einzuengen und nachzuweisen.

Es ist immer verdächtig, wenn die Ehefrau des mutmaßlichen Täters plötzlich ein Reinlichkeitsfieber bekommt und die Kleidung ihres Mannes ins Waschfaß steckt.

So hatte in einem Falle die Ehefrau eines Stallknechtes, der einen andern durch Halsstich mit seinem Taschenmesser getötet hatte, ausgerechnet am Tage nach dem Mord das Bedürfnis gefühlt, die nachweislich zwei Jahre getragene Stallhose und -Weste ihres Mannes mit in die Wäsche zu nehmen. Es war nichts mehr daran nachzuweisen. Sie hatte

allerdings nicht gesehen, daß das spritzende Halsgefäß auf den herabhängenden Zipfel des alten braunen wolligen Halstuches einige charakteristische Spritzflecken geworfen hatte, die von dem lockeren Gewebe eingesogen worden waren, und die neben dem Kautabakspeichel, der sich reichlich daran befand, kaum sichtbar waren. (s. Fig. 11.)

Die Art der Gegenstände, die zur Untersuchung auf Blut kommen können, ist so mannigfaltig, daß ihre Aufzählung sich erübrigt. Wichtiger scheint mir, auf zweierlei hinzuweisen. Einmal, daß die Untersuchung sich ganz der Art des Objektes und der Blutspur anpassen muß. Die Untersuchung eines Waschwassers auf Blut ist ganz anders anzugreifen wie die eines blutbefleckten Messers, eines rostigen Messers anders wie die eines blanken, eines ausgewaschenen Blutfleckens anders wie die einer dicken Blutkruste.

Sodann muß Grundsatz sein, nichts zu zerstören, bevor eine genaue Untersuchung und Beschreibung den vorgefundenen Zustand des Objektes festgelegt hat.

Das erste ist also eine sorgfältige Betrachtung des Objektes. Eine gute große Lupe ist dabei von größtem Nutzen.

Das Erkennen der Blutspur ist nicht immer leicht.

Im auffallenden Licht, besonders dem direkten Sonnenlicht, erkennt man die glänzenden braunen Schüppchen auch kleinster angetrockneter Blutspritzer auf dunklem Zeuge noch gut.

Aber Blutflecken haben keineswegs immer eine braunrote Farbe, sondern sie können je nach Alter, Unterlage, Temperatur, Besonnung, Befeuchtung alle erdenklichen Farben bekommen: braunrot, braun, braungrün, olivengrün (Lassaigue), hellrosarot, ja sogar fast farblos grau aussehen, wie Liman hinweist. Ganz abnorme Färbungen können entstehen, wenn der feuchte Blutfleck Farbstoffe aus der Unterlage aufnimmt. Verwaschene Blutflecken haben einen breiten Hof um den ursprünglichen Flecken, der mehr gefärbt sein kann als dieser. Vielfach deckt erst die Photographie verwaschene Spuren auf. Groß erwähnt ein solches Beispiel und gibt eine instruktive Abbildung von einem Sacktuch, auf dem erst die vergrößerte Photographie die ausgewaschene Blutspur sichtbar machte.

Ist der Blutfleckenälter, sodaß er den Blutfarbstoff als Hämatin enthält, so zeigt er zuweilen die Erscheinung des *Dichroismus*: er schimmert im reflektierten Licht grünlich, im auf- und durchfallenden Licht rötlich, besonders im Sonnenlicht, und hat dabei einen firnisartigen irisierenden Glanz, wenn man seine Stellung zur Lichtquelle ändert. Auch künstliches Licht zeigt den Dichroismus besser als diffuses Tageslicht, so daß die Absuchung des Objektes sich bei Sonnen- oder künstlichem Licht empfiehlt.

Sodann leitet uns beim Aufsuchen die Kenntnis gewisser *Prädilektionsstellen*.

An Taschenmessern ist z. B. die zum Öffnen dienende Rille und die Scharniergegend besonders sorgfältig zu untersuchen und letztere zu öffnen. Hier finden sich oft noch kleinste Spuren, die der Reinigung entgangen sind.

Ebenso an Äxten die Einlaßstelle des Eisens ins Heft. An Kleidern sind das Futter, die Taschen nicht zu vergessen, auf die Blut durchgedrungen sein kann. In den Nähten haftet auch an ausgewaschenen Kleidern vielfach noch eine Spur Blutfarbstoff. Kleidungsstücke sind daher ebenso wie Instrumente in ihre Bestandteile zu zerlegen.

Differentialdiagnostisch kommen in Betracht und können zuweilen Blutflecken täuschend ähnlich sehen: *rote Fruchtsäfte*, brauner *Tabakspeichel* an Kleidungsstücken, *Insektenexkrementen*, *Ölfarbflecken*.

In einem Fall (14. 3. 08) hatte ein Anstreicher einen fremden Jagdhund in einem Holzbottich geschlachtet und behauptet, die braunen dicken Krusten rührten von Ölfarbe her. Sie sahen diesen in der Tat in ihrem matten Glanz täuschend ähnlich, rührten indes von dem Hundeblut her. Dagegen mußten braune Flecken an einer Tuchmütze (21. 9. 08) und einer Hose (5. 10. 08), die für Blut gehalten worden waren, für Ölfarbflecken erklärt werden.

Pilzrasen von Rotfarbstoff produzierenden Pilzen (*Porphyrium cruentum*, *Achorion Schönleinii*) finden sich häufig an Gegenständen, die viel im Freien und Feuchten benutzt wurden oder gelegen haben, und haben wiederholt zu Verwechslungen Anlaß gegeben.

Endlich vor allem der Eisenrost, der um so wichtiger ist, als er den Blutnachweis störend beeinflussen kann, wie wir später sehen werden.

Zur Unterscheidung des Eisenrostes von Blut mögen folgende Merkmale dienen: Rost ist gewöhnlich mehr ockergelb bis gelbbrot, matt und festhaftend; Blut dagegen karmoisinrot, glänzend und leicht abschilfernd. Doch sind die Unterschiede nicht immer so deutlich.

Der vom Regen abgewaschene Rost färbt oft die benachbarten Holzteile rötlich, so daß die Flecken wie dünne abgewischte Blutlagen aussehen. Besonders verwittertes rostiges Holz macht oft den Eindruck blutigen Holzes.

Außer den Fragen, ob Blut vorliegt, und welcher Art dieses ist, Fragen, die in erster Linie der Beantwortung harren, gibt es noch manche andere, die dem Untersuchungsrichter zu wissen von Interesse sind. Da hierauf vor der Inangriffnahme der eigentlichen Blutuntersuchung oder im Laufe derselben zu achten ist, will ich diese Fragen hier zuerst besprechen.

Die Form und Gestalt der Blutflecken ist vielfach ganz charakteristisch und bietet Anhaltspunkte, die auf die Art ihrer Entstehung schließen lassen. Demnach sind zu unterscheiden: Spritz-, Tropf-, Wisch-, KlatSCH- und Tupfflecken bzw. Abdrücke.

Blutspritzer, die aus einer durchschnittenen Arterie gegen einen Gegenstand fallen, haben vielfach die Form eines



Fig. 1.

Ausrufungszeichens, dessen Kolben der spritzenden Quelle zu-, dessen Punkt ihr abgewandt ist. Ferner haben sie glatte, scharf begrenzte Konturen und natürlich alle so ziemlich ein und dieselbe Größe, d. h. sie überschreiten nicht die Größe eines Tropfens. Je länger ausgezogen das Ausrufungszeichen ist, desto schräger, in desto spitzerem Winkel ist der Tropfen aufgefallen. Daneben ist aber natürlich auch die spritzende Kraft, die Schleuderkraft von Einfluß. (Fig. 1.)

Solche Ausrufungszeichen können nun auch von einem blutfeuchten Instrument abfallen, mit dem zum zweiten Hieb ausgeholt wird — und hier ist wichtig, zu wissen, daß aus der Richtung des Ausrufungszeichens auf die Stellung des Täters zum Opfer, auf die Richtung des Schlages geschlossen werden kann.

Der Knecht P. hatte nach Ermordung seines früheren Dienstherrn und dessen Frau und Tochter mit dem blutigen Beil den Geldkasten erbrochen. Die eine Längsseite des rohen Holzkastens wies die von dem Beil beim Schlage abgesprungenen Blutropfen in Form von klassischen Ausrufungszeichen auf, deren Richtung den geführten Schlag kennzeichnete. Es ist klar, wie wichtig und belastend u. U. ein solcher Befund sein kann. (6. 2. 09).

Und endlich findet man diese Blutspritzer, und zwar am zahlreichsten und klassischsten, wenn mit einem scharfkantigen Instrument, also meist einem Beil oder dem scharfen Teil eines Hammers, oder auch mit einem spitzen Stein eine klaffende Wunde geschlagen wird, aus der das Blut unter dem heftigen Aufprall hervorspritzt.

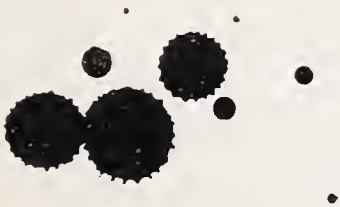


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Tropfflecke sind rundlich, wenn sie senkrecht auf eine Fläche fallen. Sie haben aber oft Ansätze, sind gezähnt und zeigen neben dem größeren Flecken noch ein oder mehrere von dem großen abgesprungene Nebentröpfchen in nächster Nähe des großen. (Fig. 2.) Sie werden elliptisch, wenn sie an einer gewölbten, kugeligen Fläche vorbeistreifen. Laufen sie von dem senkrecht stehenden Gegenstand herab, so bilden sie eine Straße, deren Ende den Tropfen als eine Verdickung enthält. (Fig. 3.)

Fällt der Tropfen heftig, also etwa aus größerer Höhe auf, so zerstäubt er, d. h. er bildet zahlreiche kleinste Nebentröpfchen

und seitliche Ausläufer. (Fig. 4.) Fällt er dabei schräg auf, so befinden sich diese Ausläufer nur an einer, der Quelle abgewandten Seite. (Fig. 5.)

Tropfflecken, die von einer gehenden Person fallen, haben mehr ovale, oblonge Gestalt, und die Seitenspritzer und Nebentropfchen befinden sich gewöhnlich nur an einer Spitze des Ovals und zwar an der Spitze, die der Richtung des Gehenden entspricht.



Fig. 5.



Fig. 6.

Je länglicher der Tropfen ausgezogen ist, desto schneller war die Fortbewegung des Gehenden.

Aber es kommen auch Ausnahmen vor; wenn der Gehende z. B. mit dem Arm schlenkert, und während der Bewegung nach rückwärts von der Hand ein Tropfen abfällt, so wird er dieselbe Gestalt zeigen, seine abgesprengten Nebentropfchen aber nach der entgegengesetzten Richtung hin liegen (G r o ß). (Fig. 6.)

Ganz unregelmäßige Gestalt haben meist W i s c h-, K l a t s c h- und T u p f f l e c k e n. Immerhin kommen auch hier zuweilen charakteristische Formen vor, aus denen Schlüsse gezogen werden können. Das sind vor allem jene von Instrumenten herrührenden Abwischspuren, von blutigen Messern und Beilen, deren Kontur die Spur deutlich zeigt und den zur Tat benutzten Gegenstand sofort verrät. (Fig. 7.)

Das gilt weiterhin von den blutigen A b d r ü c k e n von Fuß und Hand oder Knie, von den Papillarlinien so gut wie von Stoffmustern u. ä., die ja alle ganz besonderen kriminalistischen Wert haben. Ich habe eingangs schon einen derartigen Fall erwähnt. (Fig. 8 u. 9.)

B a l t h a z a r d - B o u c h a r d gelang die Identifizierung des Abdruckes einer blutigen Handfläche an einem Hand-

tuch durch eine charakteristische professionelle (Kellner-) Schwiele auf der Höhe des Kleinfingerballens, vom Entkorken der Flaschen herrührend.

Das eigentümliche Aussehen verwaschener Blutflecken wurde oben schon beschrieben.

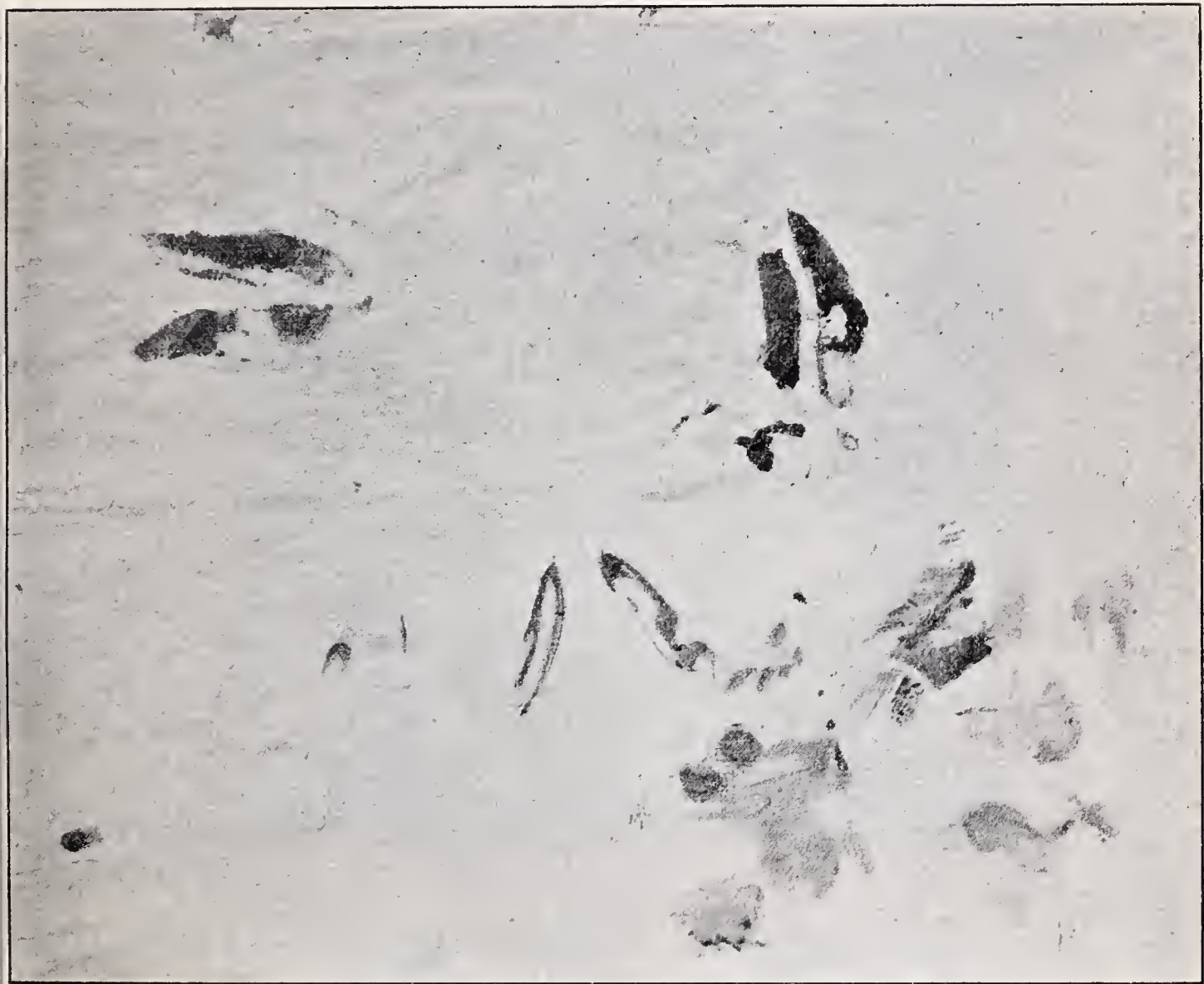


Fig. 7.

Vier Abwischspuren eines blutigen Taschenmessers an einem baumwollenen Tuch. Rechts unten mehrere Abdrücke blutiger Finger.

Es ist immer von Wert, die Lage, Größe, Gestalt der Blutspuren, die an einem Gegenstand haften, festzuhalten, da sie, besonders wenn sie klein sind, durch die Entnahme des Materials für die Untersuchung verloren gehen. Ihr Sitz ist dann später nicht immer leicht wiederzufinden. Sehr oft ist aber in der

Hauptverhandlung über diese Dinge genaue Auskunft zu geben; es knüpfen sich hieran Erörterungen über wichtige Momente, die sich wieder erst in der Hauptverhandlung ergeben.

Ist die Blutspur größer, so sollte nur ein Teil derselben zur Untersuchung verwendet werden, aus dem Rest, etwa der Hälfte, ist dann der ganze Flecken leicht zu rekonstruieren. Bei kleineren

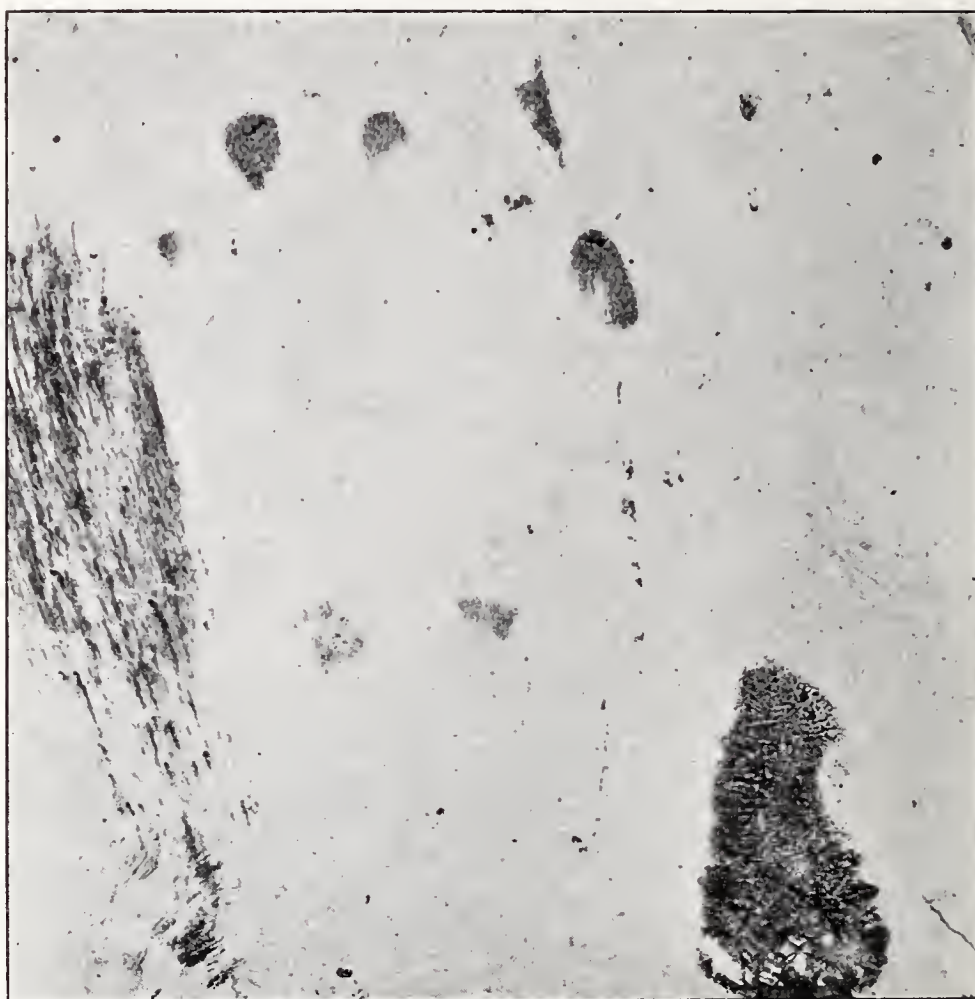


Fig. 8.

Blutiger Abdruck vom Kleinfingerballen
und von 4 Fingern der rechten Hand (der Daumen fehlt)
auf weißer Wand.

Spuren, wo alles Material verbraucht werden muß, ist es angebracht, den Gegenstand vorher zu photographieren oder abzuzeichnen und die Lage der Blutspuren auf der Zeichnung oder Photographie zu markieren.

Nicht nur, daß die lichtempfindliche Platte mehr leistet als das menschliche Auge; die objektive photographische Darstellung wirkt immer überzeugender als lange noch so genaue Beschreibungen, die immer subjektiv sind.

Klebt man nach dem Vorgang von Stockis einen Millimeterpapierstreifen neben der Spurauf, den man mitphotographiert, so lassen sich auch in der Vergrößerung der Photographie die Abstände und die Größe der einzelnen Spuren exakt feststellen.

Je nach dem Grund, auf dem sich der Blutflecken befindet, ist die Platte zu wählen. Die gewöhnliche Platte eignet sich nur für hellblauen, hellgrauen, hellgrünen Grund; ist der Grund dunkelblau, dunkelgrau, schwarz, so bedarf es einer blauen Abblendung, während für dunkelgelben, dunkelgrünen, und roten Grund die orthochromatische Platte mit gelber Abblendung zu wählen ist (Niceforo-Lindenau).



Fig. 9.
Sechsfache Vergrößerung des Mittelfingerabdruckes aus Fig. 8.



Fig. 10.

Pause von Blutflecken auf den Vorderteilen der Weste des Mörders M. (25. 8. 09). a. Durch versuchte Auswaschung vergrößerte Blutflecken, die zweifellos herangespritzt waren. b. Bei der Auswaschung übersehene dicke Blutkrüstchen. c. Tabakspeichelflecke.

Aber die Photographie gibt nicht immer ein deutlich sichtbares Bild. Das ist bei dunklen Kleidungsstücken z. B. der Fall. Ich habe mir dann mit *Durchpausen* geholfen. Man legt das Kleidungsstück: Taschentuch, Halstuch, Weste u. dgl. auf einen großen Aktenbogen und sticht mit einer Nadel die Konturen der Blutspuren ab. Die Stiche im Papier werden mit Tinte nachgezogen, die Spuren numeriert und zu jeder Spur das Ergebnis nebenan vermerkt.

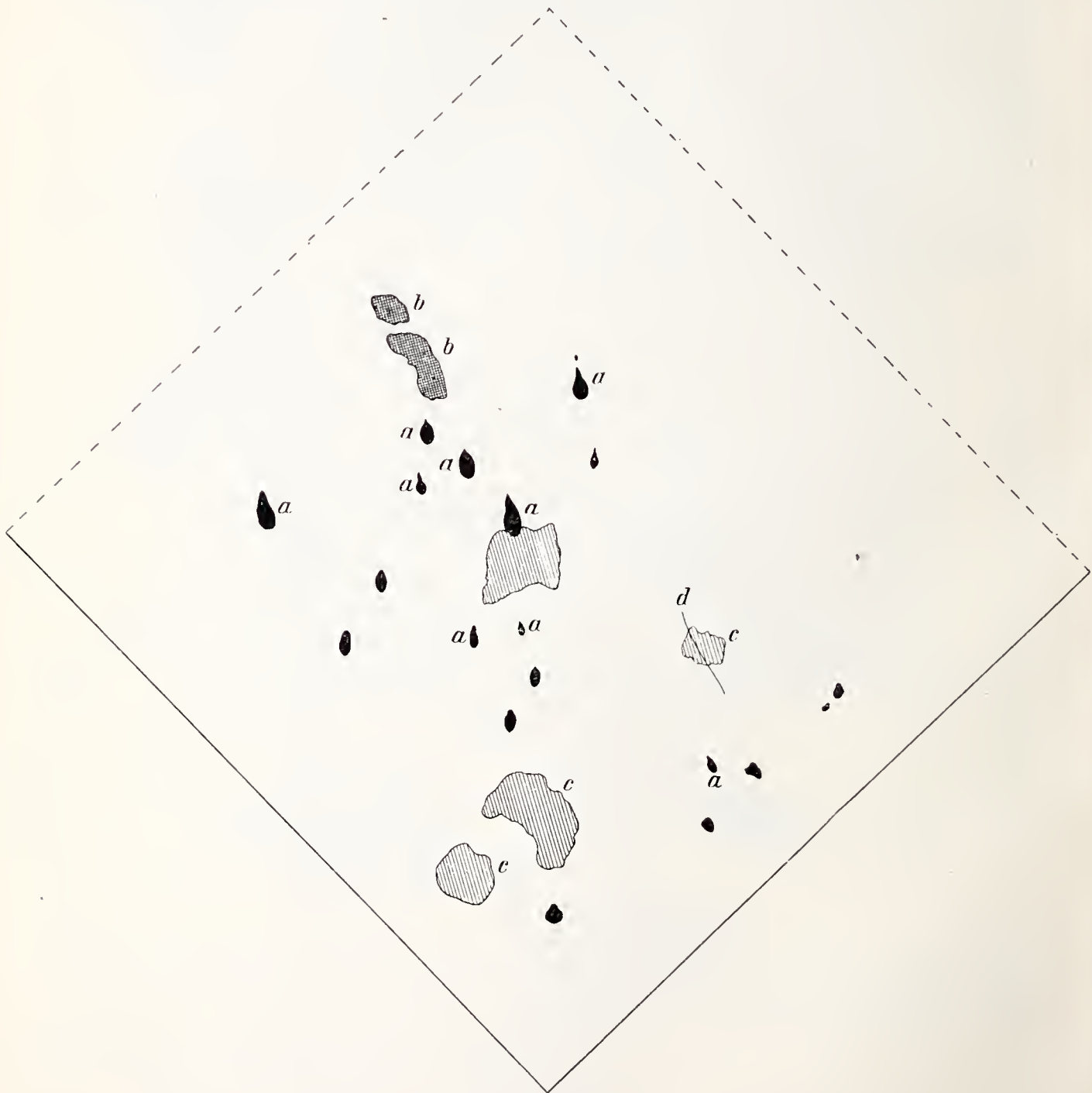


Fig. 11.

Pause von Blutspritzern aus der durchstochenen Halsschlagader auf dem Halstuchzipfel des Mörders R. (13. 4. 08). a. Charakteristische Spritzflecken in Ausrufungszeichenform. b. Verwischte Spritzer. c. Krusten von Tabakspeichel. d. Ein Tierhaar.

Manchmal läßt sich schon aus der Lage der Blutspuren die Verteidigung der Angeschuldigten als wahr oder als verfehlt erkennen.

In einem Fall (29. 1. 1908) von Kindesmord war uns ein mit Blutflecken bedeckter Holzknüppel zur Untersuchung übergeben worden, der zur Zertrümmerung des kindlichen Schädels benutzt sein konnte. Es zeigte sich jedoch, daß die Blutflecken sämtlich einen schmalen Streifen längs des ganzen Knüppels einnahmen, und daß sie alle die Gestalt von Tropfflecken besaßen mit abgesprengten Perlentröpfchen. Der Knüppel war lose in einer Rille des mit gleichartigen Rundhölzern belegten Fußbodens liegend gefunden worden, und die Blutstropfen waren offenbar von der hin und her gehenden Mutter frisch port partum aufgetropft. Nunmehr ergab erst die weitere Untersuchung, daß nicht die Mutter, sondern der Geliebte das Kind, und zwar indem er es mit dem Kopf gegen die Wand geschlagen, getötet hatte.

In einem anderen Fall (23. 7. 1909) konnten mehrere Blutflecken an dem Brust- und Schulterteil des Hemdes, die außen intensiver als innen waren, nicht von Insektenstichen herrühren, wie der Angeschuldigte behauptete. Ebensowenig konnten die Blutflecken an einer Hosentasche (11. 10. 1909) von einer Kratzwunde des Körpers, sondern nur von der eingeführten blutigen Hand herrühren, da sie sich vorzugsweise auf der Innenfläche der Tasche befanden.

Dagegen ist man vollständig machtlos gegenüber einer Behauptung, wie sie ein Angeklagter, der des Totschlags durch Bauchstich mit seinem Taschenmesser angeschuldigt war, plötzlich in der Hauptverhandlung vorbrachte (22. 1. 1908): die Blutspur, die sich in der Rille der Schneide noch fand, rühre vom Hühneraugenschneiden her. Er erinnere sich jetzt, daß es dabei einmal geblutet habe. —

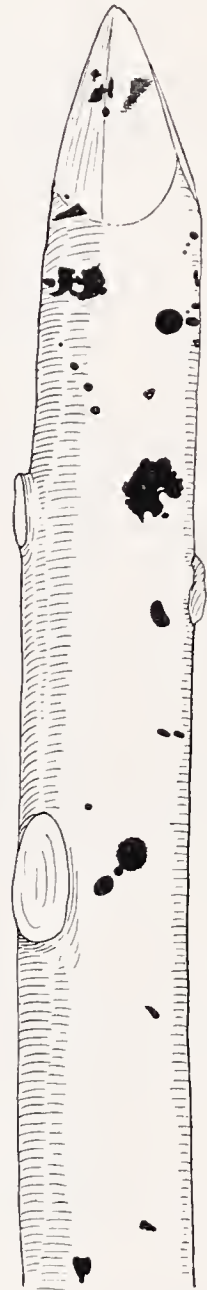


Fig. 12.

Rundholz von 68 cm Länge, 10 cm Umfang, an beiden Enden roh zugespitzt. Die Blutflecken (Tropfflecken) befinden sich sämtlich auf einer Seite, sechs sogar, die in 9, 13, 16, 25, 45, 51 cm Abstand von der Spitze liegen, in einer geraden Linie.

Damit war die Hauptbelastung durch einen glücklichen Gedanken belanglos geworden. Für den Versuch einer individuellen Blutdifferenzierung, der ja sowieso wenig aussichtsreich erschien, hätte das Material nicht mehr gereicht.

Von großer Wichtigkeit sind **Beimengungen** zum Blut. Auf solche ist also zu achten und zu fahnden; sie sind vor Zerstörung durch die Blutuntersuchung zu bewahren, denn sie können Anhaltspunkte geben über die **Blutart** (Haare, Sperma, Vogelfedern, Kleidungspartikel) und über den **Körperteil** (Haare, Hirnsubstanz, Muskelfasern, Haut), von welchem das Blut stammt. (Näheres darüber beim mikroskopischen Blutnachweis.)

Die **Farbe und das Aussehen der Blutspur** gibt oft Aufschluß über das **Alter** derselben. Im allgemeinen kann man sagen:

Frische Blutflecken sind hellrosarot und haben einen grünlichen Schimmer.

Ältere sind braunrot bis schwarzbraun, besonders die letzteren, in denen sich Hämatin gebildet hat, sehen Rost oft täuschend ähnlich. So alte Blutspuren kommen jedoch selten zur Untersuchung. In den meisten Fällen ist der Zerfall des Blutes nicht über die Methämoglobinbildung hinausgegangen.

Natürlich hängt das Aussehen des Blutfleckens wesentlich von den Bedingungen ab, unter denen er gestanden hat, und wenn diese Bedingungen nicht bekannt sind, ist u. U. die Schätzung des Alters sehr erschwert.

Vor Licht geschütztes Blut verändert sich nur langsam; aber im Sonnenlicht tritt schnell Methämoglobin- und Hämatinbildung ein. 10 Stunden Besonnung leisten schon so viel wie 6 Tage diffuses Tageslicht.

Aus einem mit frischem Blut reichlich getränkten Leinen konnte mit destilliertem Wasser nach 14 tägiger direkter Tagesbelichtung nur mehr eine ganz schwach gelblich gefärbte Blutfarbstofflösung ausgezogen werden, die kein Spektrum mehr zeigte, während der im Dunkeln gehaltene Kontrollappen noch eine starke Oxyhämoglobinlösung ergab. Die Löslichkeit des Blutfarbstoffes leidet also ganz beträchtlich durch Belichtung; es bilden sich schwerer lösliche Derivate. Wir werden weiter unten darauf noch zurückkommen.

In einer Mordsache, die mehrere Wochen zurücklag, fand sich in feuchtem Stallstroh noch frischrotes, leicht lösliches, oxyhämoglobin-haltiges Blut, während das aus derselben Quelle stammende, im Freien getrocknete, wahrscheinlich auch besonnte Blut an einem Holzgegenstand dunkelbraun und fest und nur mehr mit starken Lösungsmitteln löslich war. (23. 7. 09.)

Das Aussehen kann also täuschen, denn hier hätte man annehmen müssen, daß die Spuren von ganz verschiedenem Alter waren.

Aus diesem Grunde sind auch die zum Zwecke der Altersbestimmung von Blutflecken aufgestellten *F a r b e n s k a l e n* von nur geringem Werte. *T o m e l l i n i* hat eine solche für Stunden bis Monate alte Blutflecken auf Leinen angegeben.

L e c h a - M a r z o empfahl darauf weiterbauend, die Farbe des Objektes nach der Skala *T o m e l l i n i*s zu bestimmen, dann aus der eigenen Fingerbeere auf das Untersuchungsobjekt einen Blutstropfen zu setzen und abzuwarten, bis er dieselbe Nuance erreicht hat wie der Blutflecken des Untersuchungsobjektes.

Ein sehr zeitraubendes und approximatives Verfahren, da es fast unmöglich ist, den Kontrolltropfen denselben Bedingungen in bezug auf Belichtung, Erwärmung, Lüftung, Feuchtigkeit zu unterwerfen, unter denen der zu untersuchende Blutflecken gealtert ist.

Ich bin in den meisten Fällen, in denen diese Frage zu beantworten war, mit der approximativen Schätzung des Alters aus der *L ö s l i c h k e i t* d e s *B l u t f l e c k e n s* am weitesten gekommen, natürlich unter Berücksichtigung der genannten Bedingungen und äußeren Umstände, unter denen der Flecken gestanden hatte.

Die Lösungsfähigkeit ist unter dem Mikroskop zu beobachten, das Spektrum mikrospektroskopisch.

F r i s c h e s B l u t ist in destilliertem Wasser leicht löslich und zeigt Oxyhämoglobinspektrum.

T a g e a l t e s löst sich langsamer in destilliertem Wasser und zeigt neben dem Oxyhämoglobinspektrum den Methämoglobinstreifen im Rot.

W o c h e n a l t e s löst sich schwer oder schon gar nicht mehr in destill. Wasser, leicht in dünner (2 %) KOH. Sie löst bald vom Rande der Scholle gut erkennbare, wenig veränderte rote Blut-

körperchen ab. Die Scholle gibt nur mehr Hämochromogenspektrum.

Monate altes und noch älteres Blut löst sich nur mehr in konz. KOH (33 %). Langsam vom Rande aus hellt sich die Scholle, meist erst unter leichtem Erwärmen, auf, isolierte Blutkörperchen sind nicht mehr zu sehen und spektroskopisch an den Rändern nur Hämochromogenspektrum zu erhalten.

Am schwierigsten ist die Frage nach der Identität zweier Blutspuren, die sich an verschiedenen oder an demselben Objekt befinden, zu beantworten.

Sichere Methoden, zwei Blutarten zu identifizieren oder — was dasselbe ist — individuelle Blutdifferenzen nachzuweisen, stehen uns noch nicht in einer für die forensische Praxis zu verwertenden Weise zu Gebote.

Die gewöhnlichen Blutproben weisen nur den Blutfarbstoff als solchen nach, und bei der biochemischen Probe auf die Blutart müssen wir die Einschränkung machen, daß wir nicht einmal immer das Bluteiweiß sehr nahe verwandter Tierarten, viel weniger das einzelner Individuen differenzieren können.

Die Absättigungsmethode (s. d.) ist für die Praxis wenig geeignet; die Isoagglutination (s. d.), gesetzt den Fall, daß frische Blutkörperchen für die Probe zu erhalten wären, ist auch kein beständiges absolut sicheres Phänomen, und die Isoagglutinine gehen überdies im angetrockneten Blut bald zugrunde.

Ist die Blutspur frisch, so könnte aus der fehlenden Autoagglutination (s. d.) allenfalls der Wahrscheinlichkeitsschluß gezogen werden, daß wenigstens eine bestimmte Person nicht in Betracht kommt.

Diese Frage ist also nicht mit einer auch nur einigermaßen genügenden forensischen Sicherheit zu beantworten.

Ganz approximativ läßt sich das Alter der Blutspur in diesem Sinne verwerten. Die Frage, ob die Blutflecken zur gleichen Zeit entstanden sein können, ist mir wiederholt im Termin als Ersatz der Frage, ob sie aus der gleichen Quelle stammen, vorgelegt worden. Wie vorsichtig man aber in der Schätzung des Alters aus dem Aussehen und der Löslichkeit der Blutspur sein muß, ist aus dem oben erwähnten Beispiel mit dem Stallstroh

zu ersehen. Nur unter der Voraussetzung, daß die Blutflecken sich im wesentlichen unter den gleichen Einflüssen und Verhältnissen konserviert haben, läßt sich ein annähernder Schluß auf das gleiche Alter derselben ziehen.

Im Januar 1909 wurden unserem Institut 2 Taschenmesser, 1 Kinderhemdchen von Leinen und 1 Kinderhöschen aus Wolle übersandt, um zu prüfen, ob sich an diesen Teilen Menschenblut befinde, und falls dieses der Fall sei, ob das Blut an den Messern mit dem in den Kleidungsstücken befindlichen identisch sei.

An der Klinge des einen Taschenmessers befand sich Menschenblut. Hemdchen und Höschen wiesen ebenfalls ausgedehnte Flecken von Menschenblut auf. Alle Flecken waren in gleicher Weise frisch braunrot, und es ließen sich leicht mit Kalilauge gut konturierte, gelbrötliche Blutkörperchen aus ihnen isolieren. Demnach konnte ich unter dem obigen Vorbehalt wenigstens sagen, daß das Blut an dem Messer nicht erheblich älter oder jünger zu sein scheine als das Blut an den Kleidungsstücken.

Ebensowenig wie die Unterscheidung individueller Blutarten ist bisher die der G e s c h l e c h t e r und R a s s e n in einer forensisch verwertbaren Weise gelungen; die v e r w a n d t e r A r t e n nur in wenigen Fällen.

Die den B l u t n a c h w e i s s t ö r e n d e n E i n f l ü s s e sind schon z. T. gestreift worden. Es sind außer den artefiziellen der A u s w a s c h u n g und A u s s e i f u n g die natürlichen Einflüsse der L u f t , des L i c h t e s und der F e u c h t i g k e i t , welche die V e r w i t t e r u n g bewirken, und die Veränderungen durch F ä u l n i s , S c h i m m e l b i d u n g , R o s t und h o h e T e m p e r a t u r .

Alle diese Einflüsse können Blut derart verändern, daß es schwer oder gar nicht mehr nachzuweisen ist.

Die Behinderung des biologischen Blutnachweises durch derartige Einflüsse soll in dem besonderen Kapitel, das diesem gewidmet ist, besprochen werden, hier dagegen lediglich von der des Blutfarbstoffnachweises die Rede sein.

Sehr rasch wird das Blut durch die gleichzeitige Einwirkung aller a t m o s p h ä r i s c h e n E i n f l ü s s e zerstört: Blut an Mauern, an im Freien lagernden Gerätschaften, an Pflanzen ist bald verwittert und abgewaschen.

Siefert fand in einem Versuch den Blutfleck an einer Mauer nach 14 Tagen fahlgrau, sich kaum mehr als solchen durch

seine Färbung von der Kalkfläche abhebend; selbst Cyankali vermochte keine spektroskopierbare Lösung mehr zu extrahieren. An Pflanzen fand er nach 6 Tagen schon das Blut derart zerstört, daß die Spektroskopie resultatlos war.

Über den Einfluß direkten Sonnenlichtes hat Hammerl, über den der Erhitzung Katayama und Hammerl Studien gemacht. Hiernach gab mit Blut getränkte Leinwand, die täglich 7—8 Stunden einer direkten Sonnenbestrahlung ausgesetzt war, während sie in den Zwischenzeiten zum Schutz gegen andere atmosphärische Einflüsse unter einer Glasglocke gehalten wurde, schon nach 3 Tagen keine wäßrige Lösung mehr; nach 6 Tagen war durch Ammoniakwasser, nach 16 Tagen mit Cyankalilösung keine spektroskopierbare Lösung mehr zu erreichen. Nach 3 Wochen fanden sich keine Erythrocyten mehr, keine Teichmannschen Kristalle waren mehr zu erhalten, dagegen löste noch Eisessig und konz. Schwefelsäure nach längerer Zeit genügenden Blutfarbstoff zur spektroskopischen Untersuchung.

In ähnlicher Weise ungünstig wirkte Erhitzung der Blutspur. Erhitzung auf 100°C einige Stunden lang setzte die Lösungsgeschwindigkeit und die Lösungsfähigkeit schon ganz außerordentlich herab; bei Erhitzung über 135°C büßte das Blut in der Regel sein Lösungsvermögen in den meisten gebräuchlichen Mitteln ein, oder es war doch wenigstens eine tagelange Einwirkung derselben und eine große Blutmenge erforderlich, um für den spektralanalytischen Nachweis eine genügende Blutfarbstoffkonzentration zu erhalten.

Bei der Fäulnis wirken ebenfalls Oxydations- und Verwitterungsprozesse als wesentlichste Ursachen, und so sind die Ergebnisse im ganzen dieselben.

Daß Schimmelpilzrasen den Blutfarbstoff, auf dem sie sich niedergelassen haben, völlig aufzehren können, ist auch dem Laien bekannt.

Endlich sind bedeutsam gewisse chemische Veränderungen, die der Blutfarbstoff durch die Einwirkung der Unterlage mit der Zeit erleiden kann. Hier sind in erster Linie die Metalloxyde, vor allem der Eisenrost anzuführen. Der erste, der darauf hinwies, war Rose, der beobachtete, daß frisch gefälltes Eisenoxydhydrat verdünnten

Blutlösungen den Blutfarbstoff völlig entziehen kann, und daß sich aus Blut, welches längere Zeit mit rostigem Eisen in Berührung gewesen war, durch Wasser kein Blutfarbstoff mehr extrahieren ließ. Der Blutfarbstoff geht mit dem Eisenoxydhydrat eine schwer lösliche Verbindung ein; daher läßt sich an stark gerosteten Messer- und Axtklingen oft der Blutfarbstoff nur mit außergewöhnlichen Mitteln nachweisen.

Wie Eisenrost wirkt auch oxydiertes K u p f e r , dem Blute den Farbstoff entziehend und zerstörend, was für den Blutnachweis an kupfernen Gegenständen erschwerend sein kann.

Endlich sind ähnliche Beobachtungen auch mit t o n e r d e - haltigen Substanzen gemacht worden.

Am längsten widersteht auf glatten, harten Flächen (Glas, Aluminium, Zink, Porzellan) angetrocknetes Blut diesen zersetzenden Einflüssen; auch Antrocknung auf glattem Holz und Stein schützt etwas, während Mörtel, besonders zerstörend wirkt.

An 30—40 Jahre alten Mordinstrumenten, die sich in unserer Sammlung befinden, sind noch gut erhaltene Spuren von Blut mit mikroskopisch deutlich differenzierbaren Blutkörperchen zu sehen, besonders an einer Glasscherbe, mit der sich ein Selbstmörder vor ca. 33 Jahren die Pulsadern geöffnet hat.

Ich glaube diesen Abschnitt nicht besser schließen zu können als mit dem nochmaligen Hinweis darauf, wie wichtig es für den Sachverständigen ist, die „Geschichte der Blutspuren“ bis zu dem Zeitpunkt der Untersuchung zu kennen; zu erfahren, welchen Einwirkungen sie ausgesetzt gewesen sind oder wenigstens gewesen sein konnten.

Daß es die Regel sein sollte, möglichst alle an einem Gegenstand befindlichen Blutspuren einer sorgfältigen Untersuchung zu unterziehen, ist selbstverständlich. Denn zweifellos können sich nebeneinander Blutspuren ganz verschiedener Art und aus ganz verschiedenen Quellen befinden, abgesehen davon, daß die Untersuchung Altersunterschiede und andere wichtige Momente aufdecken kann.

Spezieller Teil.

Der Nachweis des Blutfarbstoffes.

Die Vorproben.

Aus früheren Zeiten, als die Blutuntersuchung der besseren Mittel und exakteren Methoden von heute noch entbehrte, haben sich eine Reihe von chemischen Reaktionen auf Blutfarbstoff bis auf den heutigen Tag erhalten und genießen zum Teil auch heute noch den Ruf als brauchbare Vorproben.

Ich will aber hier nochmals betonen, wie ich dies schon in der Einleitung tat, daß ihre Anstellung und die Beurteilung ihres Ausfalls lediglich Sache des erfahrenen Sachverständigen ist, wenn nicht Irrtümer unterlaufen sollen, und kann gleich noch hinzufügen, daß dieser ihrer in den wenigsten Fällen bedarf.

Keine dieser Vorproben gibt einen sicheren Beweis für die Anwesenheit von Blut, ihr negativer Ausfall spricht im allgemeinen zwar gegen das Vorhandensein von Blut, absolut verlässlich ist aber auch dieser nicht.

Es kommt hinzu, daß sie alle mehr oder weniger viel Material verbrauchen, welches damit für den endgültigen Blutnachweis verloren ist; und da in manchen Fällen das Untersuchungsmaterial nicht allzu ausgiebig vorhanden ist, ist es gewiß zu überlegen, ob man davon noch den unsicheren Vorproben opfern soll.

Ihre Verteidiger sehen ihren Wert vor allem darin, daß man mit ihnen schnell auf einer größeren Fläche die Stellen ausfindig machen könne, wo kleine Blutfleckchen vorhanden sind, die dem bloßen Auge — besonders auf dunklem Grunde — entgehen, oder deren Natur Zweifel erregt.

Aber in einer so wichtigen, verantwortungsvollen Sache, wie eine forensische Blutuntersuchung, ist es sicher nicht angebracht, die Sicherheit der Schnelligkeit zu opfern. Die beste Vorprobe bleibt immer eine gute Lupe und ein durch Erfahrung geübtes Auge.

Wenn wir die Vorproben trotzdem besprechen, so geschieht dies, weil sie vielfach noch in Übung sind, und es daher notwendig erscheint, mit ihren Mängeln und Fehlerquellen bekannt zu werden.

1. Die Vorprobe mit Wasserstoffsuperoxyd.

Diese von Schönbein 1863 angegebene Probe beruht auf der Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch ein im Blute, im Blutfarbstoff, befindliches Ferment. Der aus dem Wasserstoffsuperoxyd freiwerdende Sauerstoff perlt zu einem kleinblasigen weißen Gischt auf; gleichzeitig wird Wärme frei.

Die Wasserstoffsuperoxydlösung soll 1—3 proz. (die käufliche ist 3 proz.) und schwach alkalisch sein. Sie ist mit Lackmuspapier daraufhin zu prüfen und eventuell mit Natronlauge oder Ammoniak zu alkalisieren.

Man trägt mit einem Glasstab oder einer Kapillarpipette einen kleinen Tropfen der Wasserstoffsuperoxydlösung auf den verdächtigen Flecken auf; größere Flächen kann man mit einem zarten Spray bedecken.

Ist frisches Blut vorhanden, so tritt explosiv das kleinblasige Schäumen auf, das den klaren Tropfen in einen weißen Gischt umwandelt. Je älter der Blutfleck ist, desto langsamer tritt die Katalyse und die Schaumbildung ein.

Bei blutverdächtigen Flüssigkeiten (Waschwasser) unterschichtet oder mischt man 1—2 ccm derselben, nachdem man etwaige Schaumblasen mit Filtrierpapier entfernt hat, mit 2—3 Tropfen der Wasserstoffsuperoxydlösung, die man am Rande des Reagenzröhrchens entlang laufen läßt. Bald steigen mit leisem knisternden Geräusch kleinste Bläschen an die Oberfläche oder setzen sich an die Glaswand an, je nach der vorhandenen Blutmenge einen mehr oder weniger starken und einige Zeit bestehen bleibenden Schaum bildend. Dabei tritt eine geringe Erwärmung des Glases ein.

Ist der Blutfarbstoff im Verhältnis zur Flüssigkeitsmenge gering, so kann man ihn durch Eindampfen derselben im Wasserbad einzuengen versuchen.

Im übrigen ist bei Verwendung der Probe Vorsicht am Platze, denn Wasserstoffsuperoxyd ist imstande, Blutfarbstoff zu zerstören.

Davon kann man sich leicht durch folgenden Versuch überzeugen. Läßt man auf einem Objektträger zwei Blutstropfen antrocknen, benetzt den einen mit H_2O_2 -Lösung und stellt aus beiden Hämochromogen (mittels KOH und Reduktionsmittel) dar, so gibt der mit H_2O_2 benetzte im Gegensatz zu dem anderen nur ein schwaches oder, wenn der Blutstropfen sehr klein war, gar kein Spektrum. Mikroskopisch bietet er nur ein schwaches Rot bis Gelb: der Blutfarbstoff ist zerstört worden.

Es kann also nicht dringend genug davor gewarnt werden, bei geringen Blutspuren diese Vorprobe anzuwenden.

Außer Hämatoporphyrin, stark saurem Hämatin und Blutfarbstoff, der durch starke Säuren oder Alkalien zersetzt ist, geben alle Blutfarbstoffderivate die Reaktion, die alkalischen indes kräftiger als die sauren.

Auch faules und — bis zu einem gewissen Grade — erhitztes Blut wirkt noch katalytisch. In längere Zeit gekochter Seifenlauge, die Blut in der Verdünnung 1:10 000 enthielt, war die Reaktion noch deutlich.

Die Wasserstoffsuperoxydprobe ist nicht ausschließlich. In ähnlicher Weise wie Blutfarbstoff wirken auch andere Stoffe katalytisch. Vor allem Rost und andere Metalloxyde (Silberoxyd, Quecksilberoxyd), alle Edelmetalle in fein verteilter Form (Gold, Silber, Platin usw.), alle eiweißhaltigen Substrate des tierischen Körpers (z. B. Haut, Speichel, Sperma usw.), Pilze, Bakterien, tierische und pflanzliche Enzyme, Hefe- und Fermentorganismen, Protozoen, Algen, Laub, Holz, Harz, Erde usw.

Allerdings ist die Reaktion bei diesen Stoffen träger, der Schaum großblasiger als beim Blut, und durch Aufkochen des Extraktes kann die störende katalytische Wirkung dieser Stoffe ausgeschaltet werden.

Aber auch bei altem verwitterten Blut ist die Reaktion oft nur träge, und nehmen wir dazu die Gefahr der Zerstörung des

Blutfarbstoffes, so ist die Reaktion nur in der Hand des Erfahrenen eine brauchbare Vorprobe.

Überdies ist es nicht ausgeschlossen, daß bei längerer Einwirkung das Wasserstoffsuperoxyd auch das Spektrum noch in anderer als der oben geschilderten Weise beeinflussen kann. K o b e r t und T a k a y a m a fanden wenigstens ein besonderes H_2O_2 -Methämoglobinspektrum.

2. Die Vorprobe mittels Guajaktinktur und Terpentinöl.

Sie wurde um 1861 von dem holländischen Arzt v a n D e e n angegeben und von ihm als spezifisch für Blut angesehen. 1863 fand sie in S c h ö n b e i n einen warmen Verteidiger, und auch heute noch gilt sie für die beste Vorprobe.

Die Reaktion besteht in der B l a u f ä r b u n g frischer Guajakharztinktur (Ozonreagens) durch altes ozonisiertes Terpentinöl (Ozonträger) bei Anwesenheit von Blut und beruht darauf, daß das im Blutfarbstoff befindliche Ferment das Ozon aus dem Terpentinöl frei macht, und dieses das Guajakharz bläuend zu Guajakonsäure oxydiert.

Die Guajakharztinktur, die frisch sein muß, wird aus einer Messerspitze von dem Harz (= 0,5 ccm) mit 5 ccm 90—100 proz. Alkohol bereitet, die Mischung eine Minute geschüttelt und die lichtbraune Lösung klar abgegossen oder abfiltriert. Zu konz. Lösungen erschweren die Erkennung des Farbumschlags und wirken durch überschüssiges Guajakharz auf das sich bildende blaue Guajakonsäure-Ozonid reduzierend, d. h. wieder entbläuend. Je dünner und geringer die Blutspur, desto dünner muß die Guajaktinktur sein.

Das Terpentinöl soll alt und ozonreich sein; man erreicht dies, wenn man es längere Zeit offen an der Luft auf flachen Schalen stehen läßt.

Die Reaktion wird am zweckmäßigsten in folgender Weise angestellt:

Man tupft den verdächtigen Flecken mit einem vierfach gefalteten wasserfeuchten Fließpapier vorsichtig einmal ab, bringt auf die Tupfstelle des Papiers zuerst einige Tropfen der Guajakharzlösung und erst, wenn jetzt nicht schon Bläuung eintritt, nach einigen (2—3) Minuten einen oder zwei Tropfen Terpentinöl. Hat das Papier Blutfarbstoff angenommen, so tritt in kürzester

Zeit eine Bläuung der Tupfstelle auf, die besonders lebhaft von den kleinen Blutpartikelchen ausgeht, die an dem feuchten Papier hängen geblieben sind. Bläuungen, die später als innerhalb einer Minute nach dem Zusatz des Terpentinöls eintreten, können nicht mehr als beweisend angesehen werden, da auch durch den Ozongehalt der Luft Bläuung eintreten kann. Auch muß der Farbenton ein tiefblauer sein, da manche Fließpapiere zuweilen schon durch die Benetzung mit der Harzlösung eine grünlichblaue Färbung annehmen. Deshalb soll auch nach der Benetzung mit dieser einige Minuten gewartet werden.

Von der mikroskopischen Untersuchung des Fließpapiers auf kleinste blaue Fleckchen oder Fäserchen, die vorgeschlagen worden ist, habe ich keine besondere Verbesserung der Methode gesehen. Sie erhöht die Fehlerquellen.

Bei blutverdächtigen Flüssigkeiten verfährt man am besten so, daß man im Reagenzglas 1 ccm der Flüssigkeit mit gleichen Teilen Guajakharzlösung und Terpentinöl (etwa \overline{aa} 1,0 ccm) vorsichtig am Rande entlang überschichtet.

An der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten entsteht bei Anwesenheit von Blutfarbstoff ein indigoblauer Ring neben einem schmutzigweißen Harzniederschlag. Umgeschüttelt, wird der ganze Inhalt des Glases undurchsichtig hellblau.

Die Reaktion ist an den Eisengehalt des Blutfarbstoffs gebunden. Daher geben nur die eisenhaltigen Blutfarbstoffderivate Hb und Ht die Reaktion, nicht aber das eisenfreie Htp, Hämatoidin und Hydrobilubin.

Die Feinheit der Probe wird allenthalben hervorgehoben und sie soll noch in Blutverdünnungen 1 : 25000 positiv ausfallen. Immerhin hat sie ihre Grenzen an altem unlöslichen Blut, wie überhaupt die Bläuung der Guajak tinktur um so weniger rasch und intensiv erfolgt, je älter und unlöslicher das Blut geworden ist.

Allerdings läßt sich die Anwendbarkeit der Probe dadurch erhöhen, daß man nach v. Hofmann das alte in Wasser unlösliche Blut abkratzt und vorher in Eisessig löst und erst mit der erhaltenen braunen Lösung die Probe anstellt.

Statt Eisessig kann auch Chloralhydrat als Lösungsmittel benutzt werden.

Endlich genügt vielfach auch Tränken des Fließpapiers mit einem Tropfen Eisessig. Der Ersatz des Terpentinöls durch 3 %

Wasserstoffsuperoxydlösung oder Eucalyptusöl bietet keine Vorteile.

Selbst durch Kochen in Wasser unlöslich gewordenes Blut gibt noch die Reaktion; dagegen wird sie negativ bei den alkalischen Zersetzungsprodukten der Hb, und endlich verliert über 125° erhitztes Blut die Fähigkeit, Ozon aus dem Terpentinöl abzuspalten.

Auch die v a n D e e n s c h e Reaktion ist nicht ausschließlich. Kein Geringerer als Taylor hat zuerst auf den Mangel der Spezifität der Probe hingewiesen und schon zahlreiche Stoffe angegeben, die in ähnlicher Weise wie der Blutfarbstoff ozonübertragend wirken.

Viele dieser Substanzen bläuen schon die Guajaktinktur allein, andere erst die Tinktur in Verbindung mit dem Terpentinöl.

Im allgemeinen kann man sagen, daß alle oxydierenden Substanzen diese Fähigkeit in geringerem oder höherem Maße haben.

Vor allem wieder Rost und andere Eisenverbindungen (Eisenvitriol, Eisenchlorid, Eisenjodür, Eisensulfat, essigsaures Eisenoxyd); dann Kaliumpermangan, Kaliumchlorid, Chlorkalk, Chlor, Brom, Jod, Manganoxyd, Bleioxyd, Ferri- und Ferrocyan-kali, Chrom-, Rhodan- und Kupfersalze.

Ferner organische Stoffe der verschiedensten Herkunft: ungekochte Milch, Kasein, Kleber, Malzextrakt, roher Kartoffelbrei, Eiter, Speichel, Schweiß, Leder, Flanell, frische Wurzeln, Gummi arabicum, Pflanzenextrakte.

Zwar hat Liman schon darauf hingewiesen, daß ein kurzes, zwei Minuten langes Aufkochen des Extraktes genügt, um den in diesem befindlichen organischen Substanzen die Fähigkeit zu nehmen, zu bläuen, während der Blutfarbstoff sie behält.

Immerhin bleiben noch so viele Fehlerquellen übrig, daß auch diese Vorprobe nur mit Vorsicht zu verwerten ist. Besonders zum Nachweis von Blutspuren an rostigen Eisenteilen ist sie nicht geeignet.

Als den größten Fehler betrachte ich, daß auch sie von dem Blutmaterial zu viel verbraucht und dem endgültigen Blutnachweis entzieht, was ihrer Verwendung bei geringen Blutspuren jedenfalls widerrät.

Um die Reaktion zu verfeinern und ausschließlicher zu gestalten, sind verschiedene Modifikationen vorgeschlagen worden.

B i n d a führt die Reaktion mikroskopisch aus. Er bringt auf dem Objektträger Blut- oder Gewebspartikel mit Guajaktinktur und Terpentinöl zusammen und beobachtet die Bläuung im Mikroskop.

S c h a e r extrahiert das Blut mittels 70 proz. Chloralhydratlösung oder 1 proz. Guajakharzlösung in Chloralhydratlösung und überschichtet die Flüssigkeit mit Terpentinöl oder Wasserstoffsuperoxyd.

Die Probe ist in beiden Modifikationen empfindlicher, aber nicht beweisender.

S i e f e r t gab folgendes Verfahren an: 1. Behandlung der trocknen Blutspur mit schwefelsäurehaltigem Alkohol (8—10 Tropfen Schwefelsäure zu 3—6 ccm 90 proz. Alkohol). 2. Kochen bis zum Sieden im Wasserbad. 3. Zufügen 30 proz. Kalilauge bis zur deutlichen alkalischen Reaktion. 4. Filtration und Neutralisation des Filtrats. 5. Nochmalige Filtration und Zusatz von konz. Kochsalzlösung, von Wasserstoffsuperoxyd und einigen Tropfen Guajaktinktur. Zwischen Harzlösung und Blutflüssigkeit tritt ein blauer Ring auf.

S i e f e r t hält diese Modifikation für ausschließlicher, da störende organische Substanzen, die katalytisch wirken könnten, durch die Erhitzung vernichtet, anorganische durch die Filtration beseitigt, Säuren und Salze neutralisiert oder umgewandelt würden. Er will noch mit mehrere Stunden auf 220° C erhitztem Blut und 30 Jahre altem Blut ein positives Resultat erzielt haben.

Z i e m k e hat aber für Kupfersulfat, **S c h u l z** für übermangansaures Kali, **S t a s - O t t o** für Eisenchlorid, Schwefeleisen und essigsaures Eisen nachgewiesen, daß sie auch in dieser Modifikation bläuen. Abgesehen davon ist die Probe sehr umständlich. Auch sie hat also vor der ursprünglichen Methode keine Vorteile.

Ebensowenig gilt dies von einigen neuerdings angegebenen Reagenzien. Sie sind zwar mehr oder weniger scharfe Blutfarbstoffnachweise, können aber auch nicht Ausschließlichkeit beanspruchen und sind daher forensisch nur mit Vorsicht zu verwenden.

3. Die Vorprobe mit Rieglers Reagens.

Dieses Reagens besteht aus 5 Teilen Hydrazinsulfat, 100 Teilen 10 proz. Natronlauge und 100 Teilen 96 proz. Alkohol. Die Lösung wird einige Stunden stehen gelassen, dann filtriert.

0,5 ccm der Blutlösung in destilliertem Wasser werden mit 10,0 ccm des Reagens gemischt, geschüttelt; es entsteht zunächst eine gelb grünliche, dann rosarote Färbung der Lösung. Auf erneutes Schütteln verschwindet die Rotfärbung wieder, es bildet sich jedesmal alkalisches Hämatin, um nach einiger Zeit der Rotfärbung wieder Platz zu machen, der Hämochromogenbildung.

Ich würde diese Probe kaum der Erwähnung wert halten, da sie nicht sehr scharf ist, wenn mit ihr nicht gleichzeitig die spektralanalytische Untersuchung verbunden werden könnte. Die klare Lösung zeigt, wenn die Rötung eingetreten ist, ein schönes Hämochromogenspektrum. Beim Schütteln verschwindet dieses, macht dem des alkalischen Hämatins Platz, dessen Spektrum jedoch meist nicht sichtbar ist, und erscheint nach einiger Zeit an Stärke zunehmend wieder. Dieser Vorgang ist beliebig oft zu wiederholen und spektroskopisch zu verfolgen.

Da die alkoholische NaOH ein gutes Lösungsmittel für älteres Blut ist, so kann man, statt erst die Lösung der Blutspur in destill. Wasser zu versuchen, sie direkt in 1 ccm des Reagens zur Lösung bringen. Das Hydrazinsulfat als Reduktionsmittel reduziert dabei das in Lösung gehende alkalische Hämatin sofort zu Hämochromagen. Die Lösung rötet sich, um beim Schütteln wieder gelbbraunlich zu werden usw.

4. Die Vorprobe mit Benzidin.

Bei Versuchen mit verschiedenen Stoffen zum Zwecke des Blutnachweises wiesen O. und R. Adler 1904 auf das Benzidin hin. Schumm, Westfal, Schlesinger und Holst, Einhorn bestätigten die Schärfe der Probe, wenn auch nicht ihre Ausschließlichkeit.

Nach den Versuchen Ascarellis wird die Probe zweckmäßig in folgender Weise angestellt:

2 ccm einer frisch bereiteten gesättigten Lösung von Benzidin Merck oder Kahlbaum in absolutem Alkohol werden mit 2 ccm 3 proz. Wasserstoffsuperoxyd und 1—2 Tropfen Eisessig gemischt. Minimale Mengen einer Blutlösung oder von Blut in Substanz genügen, um dieser Lösung in wenigen Sekunden je nach der Menge des vorhandenen Blutfarbstoffes eine grünliche bis hell- bis dunkelblaue Färbung zu geben.

Die Farbenreaktion soll spätestens innerhalb einer Minute aufgetreten sein.

Ein Benzidinreagenzpapier erhält man, wenn man vierfach gefaltetes Fliesspapier mit der gesättigten alkoholischen Benzidinlösung und einen Tropfen Eisessig tränkt. Tupft man mit diesem noch feuchten Papier das Blutobjekt ab und tropft dann einen Tropfen Wasserstoffsuperoxydlösung auf die Tupfstelle des Papiers, so nimmt diese — wie bei der van Deenschen Probe — eine tiefblaue Färbung an.

Schärfer ist aber die Reaktion mittels der Lösung; sie übertrifft hierin noch die Guajakprobe, weil der Eisessig auch älteres und verändertes Blut zugänglich macht. In 72 Stunden mit Seifenlauge ausgelaugtem Blutleinen, wo van Deen negativ ausfiel, wies sie noch Blutfarbstoff nach; ebenso in 3—6 Stunden auf 100—130° C erhitztem Blutleinen.

Die von Ascarelli angegebene Ausführung der Benzidinprobe in Kapillaren hat auch die Hausersche Schule als praktisch anerkannt. Man saugt erst das Reagens, dann den zu untersuchenden, mit destilliertem Wasser hergestellten Extrakt in die Kapillare auf. An der Berührungsstelle beider entsteht, wenn Blut vorhanden ist, ein blauer Ring. Die geringsten Mengen genügen für diese Reaktion.

Im Gegensatz zur van Deenschen fällt die Benzidinprobe mit Schweiß, Eiter, Speichel — ungekochte Milch soll allerdings nach Wilkinson und Peters Bläuung geben — und anderen organischen Stoffen, die forensisch in Betracht kommen können, negativ aus; sie ist aber, auf demselben Prinzip beruhend, ebensowenig wie diese ausschließlich und gibt mit anorganischen Substanzen [z. B. Kal. perm., Cupr. sulf., Formol, Jodsalzen, Blutlaugensalz (Merkel)] ähnliche Reaktionen wie mit Blutlösungen.

5. Die Vorprobe mit Meyers Reagens.

Meyers Reagens wird folgendermaßen für jede Untersuchung frisch bereitet:

In Erlenmeyerschem Kölbchen werden 2,0 ccm Phenolphthalein und 20,0 ccm K_2O + 100,0 Aq. dest. gemischt und mit 10,0 ccm Zinkstaub zum Sieden gebracht. Die rote Mischung entfärbt sich dabei, weil aus der K_2O + Zinkstaub H_2O_2 nasziert

und sich alkalisches Phenolphthalin bildet. Nach vollständiger Entfärbung wird die Lösung heiß durch Papierfilter filtriert und bildet das Reagens, das sofort benutzt werden muß, da spontan Rötung eintritt.

Zu 1 ccm des Reagens werden 2,0 ccm einer Blutlösung in dest. Wasser oder Blut in Substanz gefügt und 2—3 Tropfen H_2O_2 gegeben. Je nach der Blutmenge tritt sofort eine rosa bis fuchsinrote Färbung der Flüssigkeit ein und beim Schütteln ein rosa Schäum.

Der Blutfarbstoff zersetzt den H_2O_2 und oxydiert das farblose Phenolphthalin zu fuchsinrotem Phenolphthalein.

Diese Probe kommt an Schärfe der vorigen gleich, und die Farbenreaktion ist ungemein eklatant; die Fehlerquellen sind dieselben.

Die Kristallproben.

Durch mikrochemische Reaktionen lassen sich aus dem Blutfarbstoff, dem Hämoglobin, und den beiden Derivaten desselben, dem Hämatin und dem Hämochromogen, Kristalle darstellen, die für Blutfarbstoff charakteristisch sind. Aus dem Hämatoporphyrin ist dies bisher nicht gelungen.

Entdecker der Blutkristalle ist nach Preyer Bogislaus Reichert, der 1847 rote Kristalle an der Oberfläche einer Meerschweinchenplacenta fand und sie Albuminatkristalle nannte. Aber schon 1840 hat Huenefeld zweifellos Blutkristalle gesehen, tafelförmige kristallinische Ausscheidungen, die beim Verdunsten von Blutlösungen entstanden waren. Aus menschlichem Blut soll Budge sie 1850 zuerst erhalten haben.

Diese Kristalle, die offenbar

Hämoglobinkristalle

waren, haben allerdings für die forensische Praxis keine Bedeutung, schon deshalb nicht, weil sie sich höchstens bis zu 24—48 Stunden nach dem Antrocknen des Blutes herstellen lassen. Aus frischem, flüssigem oder älterem, noch feuchtem Blut gelingt dies leicht durch Lösung des Blutfarbstoffes mit destilliertem Wasser und

langsame Verdunstung. Es entstehen seidenglänzende doppeltbrechende Kristalle in Form von scharfkantigen meist rechtwinkligen Rhomben, die durch abgesprengte Ecken Stufen- bis Treppenform zeigen können. Die aus frischem Oxyhämoglobin ausfallenden Kristalle sind frischrot, monochroitisch und geben Oxyhämoglobinspektrum. Die aus sauerstofffreiem Hämoglobin sind dunkler rot, hexagonal und dichroitisch oder rhombisch und trichroitisch und zeigen Hämoglobin-Spektrum.

Erheblich mehr Interesse können die

Hämatinkristalle

beanspruchen. Sie haben geraume Zeit bis zu der und auch noch neben der von H o p p e - S e y l e r eingeführten Spektralanalyse den forensischen Blutnachweis beherrscht.

T e i c h m a n n beschrieb zuerst 1853 diese Kristalle und gab die noch heute gebräuchliche Methode der Darstellung der „H ä m i n k r i s t a l l e“, wie er sie benannte, an. Unter der Einwirkung von Eisessig und Kochsalz auf Blut bilden sich bei Erhitzung hellbraune doppeltbrechende rhombische Tafeln von salzsaurem Hämatin mit abgesprengten Ecken und Kanten, einzeln oder zu Zwillingen und Mehrlingen liegend. Zuweilen zeigen sich neben dieser typischen Form auch Spitz- und Wetzsteinformen oder auch hanfsamenartige Kriställchen, die in Kreuz-, in Sternform, in Drusen oder auch einzeln liegen. Die Größe dieser, wie übrigens auch der typischen Kristalle, variiert sehr. Sie sind unlöslich in Wasser, Essigsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, Alkohol und Äther, schwer löslich in Ammoniak, Salpeter- und Schwefelsäure, löslich in starken Laugen (Tafel I, Fig. 2).

An Stelle des Chlornatriums kann auch Bromnatrium oder Jodnatrium benutzt werden, während Fluornatrium sich nicht eignet. Die Br Na-Kristalle haben einen rötlichbraunen, die Jod-Na-Kristalle einen schwärzlichen Ton. Neben diesen erscheinen jedoch zuweilen Cl Na-Kristalle auch ohne Zusatz von Cl Na, da das Blut von diesem ja an sich schon enthält.

Der negative Ausfall der Probe und die Bildung nicht typischer Kristallformen ist so oft auf Fehler in der T e c h n i k d e r D a r s t e l l u n g zurückzuführen, daß diese etwas eingehender besprochen werden mag.

Man verreibt und mischt ein Blutpartikelchen (flüssiges Blut muß erst angetrocknet werden) im Uhrsälchen oder auf dem Objektträger mit ganz wenig Kochsalz in Substanz, fügt 2—3 Tropfen Eisessig hinzu, läßt diesen auf den Blutfarbstoff einige Minuten extrahierend einwirken, bedeckt mit Deckglas und erhitzt über der Bunsenflamme, bis die entstehende braune Lösung Blasen wirft und langsam eintrocknet.

Ein zu starkes Erhitzen ist zu vermeiden, zum Sieden darf es nicht kommen (der Eisessig siedet bei 126°), weil dann das Bluteiweiß koaguliert wird, und ein schmutzig grauer Brei das mikroskopische Gesichtsfeld trübt und die Kristalle verdeckt. Andererseits muß der Eisessig völlig verdampft sein, weil er erst im Eintrocknen die salzsauren Hämatinkristalle abscheidet.

Ob genug Blutfarbstoff in Lösung gegangen ist, erkennt man an der braunen Färbung des Eisessigs, die dieser unter der Erhitzung annimmt. Es wird nicht immer gelingen, durch einmalige Verdampfung genügend Blutfarbstoff zu extrahieren. Man kann dann noch ein zweites und drittes Mal einige Tropfen Eisessig unter das Deckglas laufen lassen und jedesmal vorsichtig abdampfen.

Ist das Blut sehr alt und hämatinhaltig, so kommt man auch damit nicht zum Ziele, muß vielmehr die Blutpartikel zuvor 24 Stunden und länger mit konzentrierter Essigsäure, am besten bei 37° , digerieren, bevor man damit die Probe anstellt. Denn Bedingung für das Gelingen der Kristallprobe ist die Lösung des Blutfarbstoffes, da Kristallbildung nur aus tropfbar flüssigen Medien vor sich gehen kann.

Mit dem Zusatz des Kochsalzes in Substanz soll man sparsam sein, man erhält sonst zu viele störende Kochsalzkristalle im Gesichtsfeld. Das Blut enthält ja schon den physiologischen Salzgehalt. Steht physiologische Na Cl-Lösung gerade zur Verfügung, kann man diese natürlich auch benutzen, muß sie aber vorher auf dem Objektträger eindampfen.

Die drei Bedingungen für das Gelingen der Häminprobe sind also: wenig Salz, genügende Menge löslichen Blutfarbstoffes und nicht zu starke Erhitzung.

Schon Teichmann hatte Häminkristalle mittels Alkohols, der mit konzentrierter Schwefelsäure angesäuert war,

erhalten. W a c h h o l z prüfte eine Anzahl anorganischer und organischer Säuren durch und fand, daß sich alle starken Mineralsäuren und organischen Säuren hierzu eignen, wenn sie mit (90—95 proz.) Alkohol vermischt werden. Am besten gelang die Probe und gab die schönsten, größten und wohlgebildetsten Kristalle bei Anwendung von Schwefelsäure-Alkohol (1:10 000) oder von Milchsäure-Alkohol (\overline{aa}) und Eisessig-Alkohol (\overline{aa}).

Die W a c h h o l z sche Modifikation kann ich warm empfehlen. Nicht nur ist der Eisessig in alkoholischer (oder ätherischer) Lösung ein schärferes Blutfarbstofflösungsmittel als Eisessig allein; der Zusatz des Alkohols hat auch noch andere gute Eigenschaften. Der niedrige Siedepunkt des Alkohols (78°) verhütet das so häufige bruske Aufkochen des Eisessigs, begleitet von dem Abspringen des Deckgläschens. Sodann wird jeder seine Freude haben an der Klarheit des Gesichtsfeldes. Selbst ein völlig trübes Bild — wenn Eisessig allein benutzt wurde — hellt ein nachträglicher Zusatz von einigen Tropfen absoluten Alkohols, die man unter das Deckglas laufen läßt, noch auf. Endlich ist die Menge der gebildeten Kristalle bei der Benutzung des Eisessigalkohols eine größere, ihre Formen sind größer und typischer.

Die T e i c h m a n n sche Kristallprobe ist scharf, es genügen schon kleinste Stäubchen Blut, um mit entsprechend geringer Menge Kochsalz und Eisessig die Kristalle zu geben.

Hat man blutverdächtige Flüssigkeiten zu untersuchen, so empfiehlt es sich, diese erst im Wasserbad auf wenige Kubikzentimeter einzuengen, von dem Rest tropfenweise auf dem Objektträger vorsichtig einzudampfen und mit dem Rückstand die Probe anzustellen.

Die T e i c h m a n n s c h e n Kristalle können als ausschließlich angesehen werden, die Probe ist also ein absolut sicherer Blutnachweis.

1872 wies L i e b r e i c h in der Berliner med. Gesellschaft zwar auf die Ähnlichkeit mit den Kristallen des Murexids hin, das bei dem Nachweis der Harnsäure mittels HNO_3 eine Rolle spielt. Diese entstehen aber natürlich nicht mit ClNa und Eisessig. Während Murexid beim Kochen mit Eisessig rosarot wird, wird Blut schmutzig braunrot; während Murexidkristalle sich mit Wasser purpurn, mit HCl farblos und mit KOH blau

lösen, lösen sich die Häminkristalle in Wasser und HCl gar nicht und in KOH grünlichbraun (Ht). Dasselbe gilt von den Indigokristallen, die nach Virchow und Vibert mit ihnen eine entfernte Ähnlichkeit haben. Ein zugesetzter Tropfen H_2O_2 -Lösung bringt übrigens die Häminkristalle ins Schäumen, jene anderen Kristallbildungen nicht.

Eine nähere Charakterisierung der Häminkristalle durch Winkelmessung ist daher nicht erforderlich. Abgesehen von zahlreichen Übergangsformen, sind die Winkel (die stumpfen betragen gewöhnlich 120° , die spitzen 60°) vielfach abgerundet (Paragraphenform), die Kanten nicht scharf, sondern wie angefressen; die Enden aufgefasert oder kolbig aufgetrieben (Hantelform).

Die Tschmannschen Kristalle sind vergänglich; etwas länger halten sie sich bei Luftabschluß durch Umrandung des Deckglases mit Krönigschem Lack.

Ein Spektrum geben sie nicht; im Mikropolarisationsapparat bieten sie die Erscheinung des sog. Pleochroismus, d. h. sie zeigen bei einer bestimmten Orientierung gegenüber polarisiertem Licht bestimmte Farbenercheinungen, und zwar einen Wechsel vom Hellgelbbraun bis zum Dunkelbraunschwarz.

Kann nun der positive Ausfall der Probe als ein sicherer Blutbeweis angesehen werden, so ist hingegen der negative kein strikter Beweis dafür, daß kein Blut vorliegt. Denn die Darstellung der Häminkristalle kann durch verschiedene Momente behindert werden.

Das sind einmal alle jene Momente, welche die Löslichkeit des Blutfarbstoffes überhaupt herabsetzen; dann solche Stoffe, die mit dem Blutfarbstoff chemische Verbindungen eingehen, wodurch seine Löslichkeit vermindert wird.

Zu den ersteren Faktoren gehören Witterungseinflüsse, Besonnung, Erhitzung, Fäulnis, Schimmelbildung, aber auch schon das bloße Altern und Austrocknen des Blutes, sofern sein Blutfarbstoff dadurch in reines Hämatin oder Hämatoporphyrin übergeführt wird.

Nach den Untersuchungen von Katayama und Hammerl versagte die Häminkristallprobe bei blutgetränkter, der Sonne ausgesetzter Leinwand spätestens nach 3 Wochen, bei an einer Mauer angetrocknetem Blut nach Ablauf von

4 Wochen, bei in Erde gefaultem und bei verschimmeltem Blut fast stets.

Auf 120° erhitztes Blut gab zwar noch Kristalle, Erhitzung auf 140° und 150° und mehr zerstörte jedoch die Fähigkeit.

Das ist um so auffallender, als selbst Blut nach einstündiger Erhitzung auf 180° noch in Eisessig löslich und zu spektroskopieren ist.

Zu der zweiten Kategorie gehören eine Reihe von Metallen. Vor allem r o s t i g e s E i s e n. An eisernen, stählernen Klingen antrocknendes Blut befördert die Rostbildung, es gibt seinen Sauerstoff an das Eisen ab zur Bildung von Eisenoxydhydrat = Rost. Aus dem Blute entsteht dabei u n l ö s l i c h e s Hämatin oder Hämochromogen, die zur Häminkristalldarstellung sich nicht eignen.

Trotzdem kann man auch hier oft noch zum Ziele kommen, wenn man die rostige Blutspur (Hchg) erst durch 12—24 stündiges Digerieren mit konzentrierter Essigsäure in l ö s l i c h e s Hämatin zurückverwandelt und mit dem Extrakt die Probe anstellt.

Nach H u e n e f e l d extrahiert man das Eisenrostblut am besten zunächst mit Ammoniakalkohol und filtriert; es bleiben dann das Eisen und andere metallische Teile auf dem Filter. Das Filtrat wird bei sehr mäßiger Wärme (bis 50° C) eingedunstet und der Trockenrückstand zur Kristallprobe verwandt.

Ferner wirken der Kristallbildung nach v. H o f m a n n entgegen: Pottasche, Chlorkalk, Salzsäure, Salpetersäure, Jodsäure, Quecksilbersäure, Seifenalkali, Fette, Laugen, Kalk; L e w i n und R o s e n s t e i n nennen außerdem Ferrum reductum, Sublimat, Tierkohle, Seesand, Tonerde; R i c h t e r Anilinfarbstoffe. Keine Behinderung erfolgt durch Formalin.

Demgegenüber erhielt W a c h h o l z trotz all dieser Beimengungen und, ebenso wie R i c h t e r, auch trotz Eisenrostes Kristallbildung, wenn Eisessigalkohol benutzt wurde.

Aus faulem Blut wurden bald Kristalle erhalten — J a n e r t, B ü c h n e r, L i m a n, M i s u r a c a, B l o n d l o t, M o n t a l t i, M o r a c h e, W a c h h o l z, R i c h t e r — bald nicht — W e s s e l, B l o n d l o t, v. H o f m a n n. Ich selbst habe aus stark gefaultem, verschimmeltem Blut keine Kristalle

erhalten, bei mäßiger Fäulnis gelang es noch mit der Eisessig-alkohol- oder Schwefelsäurealkoholmethode, Kristalle — allerdings kleine und wenig typische — zu erhalten, wenn das Blut unter sanfter Erwärmung in dicker Schicht auf dem Objektträger angetrocknet und dann längere Zeit mit Eisessig mazeriert wurde.

Daß intakte Blutkörperchen zu dem Versuch der Häminkristalldarstellung notwendig seien, wie Kuntze 1864 (V. f. G. M. 25. 267) behauptete, ist sicher unrichtig. Kann man doch aus gefrorenem und wieder aufgetautem Blute, in welchem sicher alle Blutkörperchen zerstört sind, T.-Kristalle erhalten.

In neuerer Zeit ist noch eine andere Kristallbildung in die forensische Praxis mit Erfolg eingeführt worden: die

Hämochromogenkristalle.

Hämochromogenkristalle stellten zuerst Hoppe-Seyler 1889 und dessen Schüler Trasauro-Araki 1890 dar. Sie erhielten sie durch Behandlung von Hämoglobin mit Natronlauge bei Erhitzung auf 100° C.

Besser gelingt die Darstellung mit Pyridin: Versetzt man einen Tropfen Blut oder wäßrigen Extrakt aus einem Blutfleck mit einem Tropfen Pyridin, mischt gut durch, fügt einen Tropfen eines Reduktionsmittels (Hydrazinhydrat, Natriumhydrosulfit) zu und bedeckt mit Deckglas, so kann man bei mikroskopischer Betrachtung nach einiger Zeit unter Rötung des Blutes (Hämochromogenbildung) kleine orangegelbe, hellrubinrote bis dunkelbraunrote Kristalle ausfallen sehen, die einzeln oder stern- bis garbenförmig in Gruppen liegen und rhombisch oder nadelförmig sind oder auch lange Büschel- und Palmenformen bilden; die letzteren sind oft leicht gebogen und an den Enden schwalbenschwanzartig gespalten. (Tafel I, Fig. 3 und 4; Tafel II, Fig. 1.)

Die Formen sind also äußerst variabel, und es scheint dies nicht nur von dem Alter des Blutes, sondern auch von der Darstellungsweise abzuhängen.

Anstatt eines Blutstropfens und einer Blutlösung kann man auch das Blutpartikelchen direkt auf dem Objektträger mit Pyridin sorgfältig verreiben und extrahieren und diese Extraktion

noch durch sanftes Erwärmen über der Spiritusflamme beschleunigen, dann das Reduktionsmittel zufügen, bedecken und nun mikroskopieren. Man sieht dann, wie sich die einzelnen tiefroten Blutschollen nach und nach mit den Kristallen, besonders vom Zentrum aus, bedecken, bis sie schließlich völlig damit beladen sind. Die schönsten, deutlichsten entstehen allerdings da, wo das blutfarbstoffhaltige Pyridin verdunstet.

C e v i d a l l i extrahiert den Blutflecken mit Ammoniak-Lösung und fügt statt des Pyridin 1 Tropfen Piperidin hinzu.

L e c h a - M a r z o mazeriert ihn mit 10proz. Sodalösung, dampft die Lösung auf dem Objektträger ein, fügt je einen Tropfen Jodlösung (Jod 2,5 + Kal. jod. 0,5 + 96 proz. Alkohol 25,0) und Pyridin hinzu, reduziert mit Schwefelammon und erhält so schon ohne Erwärmen orange bis tiefrote doppeltbrechende Kristalle in Form von rhombischen oder rechtwinkligen Tafeln oder auch Nadeln.

Die Bezeichnung Jodhämatinkristalle, die er ihnen gibt, läßt man aber besser fallen, denn sie zeigen Hämochromogenspektrum, sind also den Hämochromogenkristallen zuzurechnen.

Mit S a r d a und C a f f o r t kann ich bestätigen, daß diese Probe sehr scharf ist und auch aus altem Blut noch schöne braunrote Täfelchen gibt.

S t r z y z o w s k i hatte schon vorher den L e c h a - M a r z o - schen ähnliche Jodhäminkristalle auf folgende Weise erhalten: Er versetzte das blutverdächtige Partikelchen oder den Rückstand der auf dem Objektträger verdampften bluthaltigen Flüssigkeit mit 1 Tropfen einer Mischung von je 1,0 ccm Eisessig, Wasser und Alkohol, dem er 3—5 Tropfen reiner Jodwasserstoffsäure zusetzte, und kochte zweimal je 10 Sekunden auf. Es bildeten sich kleine schön geformte schwarzbraune Jodhäminkristalle rhombischen Charakters.

Die Hämochromogenkristalle zeigen im Mikropolarisationsapparat den gleichen Pleochroismus wie die Häminkristalle. Sie sind unbeständig, verwandeln sich infolge der Oxydation des Hämochromogens in braunes Hämatin und zerfließen sehr bald bei Luftzutritt. Um sie zu konservieren, kann man das Präparat mit K r ö n i g schem Deckglaskitt umranden.

Die Hämochromogenkristallprobe ist scharf, sie gelingt noch mit sehr altem, erhitztem, gefaultem, ausgeseiftem, durch

Alkalien und Laugen verändertem Blut. Beimengungen von Sand, Staub, Rost hindern nicht.

D o n o g a n y erhielt sie aus 19 Jahre alten Blutflecken, die keine Häminkristalle mehr gaben; P u p p e - K ü r b i t z aus Rostblut, wo T e i c h m a n n versagte.

L e c h a - M a r z o nennt als seine Darstellungsweise behindernd: Chlorkalk, Essigsäure, Sublimat und Arg. nitr., nicht dagegen Eisensalze, Ammoniak, Ameisensäure, Karbolsäure, Farbstoffe, H_2O_2 , Eiter, Seife, Erhitzung.

K ü r b i t z gelang die Kristallbildung nicht mit 40 Minuten auf $150^{\circ}C$ erhitztem Blut, wohl aber, wenn das Blut auf Glas angetrocknet und dann 25 Minuten auf $120^{\circ}C$ erhitzt wurde.

Ich führe die L e c h a - M a r z o s c h e Methode der Hämochromogenkristalldarstellung bei älteren Blutspuren in folgender Weise aus:

1. Lösung der Blutspur mittels Pyridins auf dem Objektträger unter gelindem Erwärmen.
2. Zufügen eines Tropfens der Jodkalilösung, wieder gelindes Erwärmen, bis die Flüssigkeit getrocknet ist.
3. Zufügen eines Tropfens Pyridin und
4. eines Tropfens Schwefelammonium.
5. Sofort Bedecken mit Deckglas.

In wenigen Sekunden schießen die dunkelbraunroten Jodhämochromogenkristalle auf.

Nach meinen Erfahrungen ist die Hämochromogenkristallprobe ein vollwertiger Ersatz der Häminkristallprobe, die aus verschiedenen Gründen oft mißlingt. Pyridin ist ein außerordentlich scharfes Extraktionsmittel für den Blutfarbstoff, und es gelingt mit ihm, durch Erwärmen noch Blutfarbstoff zu lösen, wo andere Lösungsmittel versagen. Sie steht an Schärfe mit der Eisessigalkohol- und der Schwefelsäurealkohol-Methode der Häminkristalldarstellung in einer Reihe; sie übertrifft diese darin, daß der Hämochromogencharakter der Kristalle gleichzeitig mikrospektroskopisch festgestellt, die Blutanwesenheit also auch spektralanalytisch mit ein und demselben Partikelchen erwiesen werden kann.

Auch die Hämochromogenkristalle werden allerdings nicht mehr aus reinem Hämatin erhalten.

Im übrigen können auch sie als ausschließlich angesehen werden.

Von den genannten Methoden scheint mir nach meinen Erfahrungen die von *Lecha-Marzo* angegebene praktisch die brauchbarste, da sie sehr scharf ist und sofort beim Zusammengeben der 3 Reagenzien — also schon in der Kälte — Kristalle aus dem Blutfarbstoff bildet. Mit Pyridin allein gelingt dies bei frischem Blut zwar auch in der Kälte, aber erst nach längerer Zeit, nach Stunden; durch Erwärmen allerdings schneller. Aber hierbei ist Vorsicht am Platze, da durch zu starkes Erhitzen die Fähigkeit der Kristallbildung leicht verloren gehen kann. Zum Blasenwerfen, wie bei der *Teichmannschen* Probe, darf es nicht kommen.

Nur der sollte sich überhaupt der Kristallproben beim forensischen Blutnachweis bedienen, der mit ihnen vertraut ist und im Anstellen dieser Reaktionen genügende Übung hat. Wer darin nicht bewandert ist, wende sich lieber der Spektroskopie zu, deren Methoden verhältnismäßig einfacher und ebenso sicher sind.

Die Spektralproben.

Gewisse Lichtstrahlen werden, wenn sie durch Blutlösungen hindurchgehen, ausgelöscht. Je nach dem Grade dieser Absorption erscheinen mehr oder weniger dunkle Schattenbänder in dem prismatisch zerlegten Licht, dem Spektrum. Die Lage dieser ist für Blut, für Hämoglobin und seine Derivate, durchaus charakteristisch, so daß es mit ihrer Hilfe möglich ist, Blut von anderen ähnlich gefärbten Lösungen zu unterscheiden.

Der Spektralapparat zeigt diese Absorptionsstreifen, wenn die Blutlösung zwischen ihn und die Lichtquelle gebracht wird, sei es zwischen Licht und Kollimatorsplatt oder zwischen Splatt und Prisma oder zwischen Prisma und Auge.

Für Oxyhämoglobin stellte 1862 *Hoppe-Seyler* als erster das zweistreifige Spektrum nach den *Fraunhofer'schen* Linien fest und wies schon auf die Bedeutung des spektroskopischen Blutnachweises für die gerichtliche Medizin hin.

Bevor wir an die spezielle Blutuntersuchung mittels der Spektroskopie gehen, müssen wir mit dreierlei genügend bekannt sein:

1. mit dem Spektralapparat und seiner Handhabung;
2. mit den Spektren der verschiedenen Blutderivate;
3. mit den passenden und gebräuchlichen Blutlösungs- und -Reduktionsmitteln.

Der Spektralapparat.

Da der Praktiker sich vorzugsweise mit dem Handspektroskop befaßt, und die neueren dieser Apparate auch forensischen Anforderungen völlig genügen, will ich hier nur eine kurze Beschreibung des *Browningschen* Taschenspektroskopes und seiner Handhabung geben.

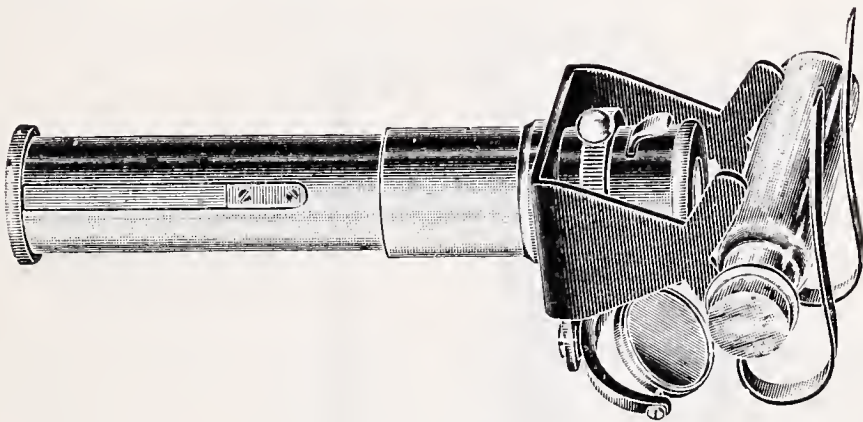


Fig. 13.

Browningsches Handspektroskop der Firma Leitz,
mit Vergleichsprisma und Küvettenhalter.

Derartige Instrumente liefern *Zeiß*, *Schmidt* und *Haensch*, *Krüß* und andere Firmen heute auch mit Wellenlängenskala, so daß also auch mit ihnen die Lage der Schattenbanden exakt festzustellen ist, und die Stativapparate von *Bunsen-Steinheil*, *Bunsen-Krüß*, *Bunsen-Kirchhoff* für die Praxis entbehrlich sind. Übrigens läßt sich auch das Handspektroskop in einem Stativ befestigen.

Das gradsichtige *Browningsche* Handspektroskop besteht aus dem Kollimatorschlitz, der Sammellinse und dem Prismensatz: zwei Kronglas- und einem Flintglasprisma von bestimmtem Brechungswinkel (*Amici-Prisma*).

Die Scharfeinstellung des Spektrums und der Skala erfolgt durch Verschieben der beiden ineinandergreifenden Rohre.

Die Spaltbreite läßt sich durch Drehung eines Ringes regulieren.

Um die gleichzeitige Spektroskopie der Controllösung zu ermöglichen, dient ein am Spaltkopf angebrachtes V o g e l s ches Vergleichsprisma mit Spiegel oder der sogen. H ü f n e r s che Rhombus, dessen Bild ebenfalls mittels Spiegels in die Ebene

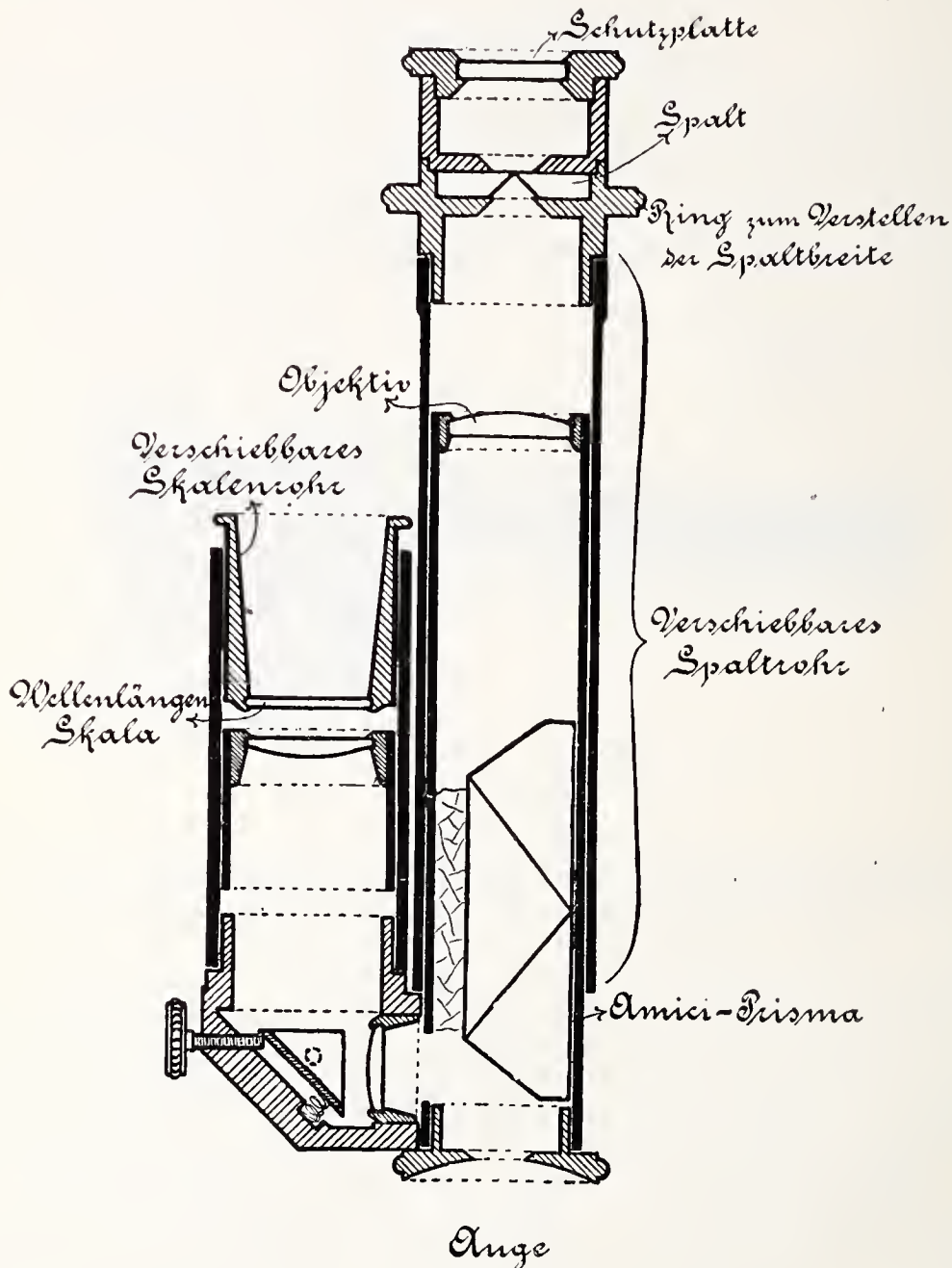


Fig. 14.

Browningsches Handspektroskop der Firma Zeiss, mit Vergleichsprisma und Wellenlängenskala (von H. W. Vogel modifiziert).

des Spektrums geworfen wird, so daß zwei durch eine feine Linie getrennte, vertikal übereinander liegende Spektren erscheinen.

Gleichzeitig wird durch dieses Prisma auch die Wellenlängenskala in die Ebene des Spektrums projiziert. Die Parallelstellung der Skala mit den F r a u n h o f e r s chen Linien erfolgt durch Drehung des verschiebbaren Skalenrohrs.

Um ein reines, scharfes Spektrum zu erzielen, muß der Kollimatorspalt möglichst eng stehen, etwa 0,01—0,02 mm weit.

Vor der Untersuchung ist die Wellenlängenskala so zu regulieren, zu eichen, daß die Natriumlinie, die Fraunhofer'sche Linie D, mit Nr. 9 bzw. λ 589 der Skala zusammenfällt. Die D-Linie macht man sich sichtbar, indem man — unter Abblendung des Zimmers — eine Spiritusflamme, auf deren Docht etwas Kochsalz gestreut wird, zwischen die Lichtquelle und den Kollimatorspalt bringt. Es erscheint ein blendend heller feiner Lichtstrahl im Spektrum, die Natriumlinie.

Die übrigen Fraunhofer'schen Linien liegen dann: C in 6,2 bzw. λ 658; E in 11,6 bzw. λ 529; b in 12 bzw. λ 517 und F in 13,3 bzw. λ 486.

Die spektralanalytische Untersuchung von Blutlösungen findet am besten in planparallelen Glaskästchen (Küvetten) von $1 \times 2,5$ cm lichter Weite statt. Im Notfall genügt natürlich ein Reagenzröhrchen.

Die Bestimmung der Lage und Ausdehnung eines Absorptionsstreifens erfolgt nach der Farbe, die er auslöscht, nach den von der Skala abzulesenden Wellenlängen (λ) in Milliontelmillimetern ($\mu\mu$) und nach den Fraunhofer'schen Linien, jenen Absorptionslinien, welche durch die die Sonne umhüllenden glühenden Gase und Dämpfe verursacht werden.

Zur Beurteilung der Absorptionsstreifen dient ferner außer der Lage und Ausdehnung ihre Intensität und Begrenzung. In bezug auf die Intensität unterscheidet man mit Formánek symmetrische und asymmetrische Streifen, je nachdem die größte Intensität, das Dunkelheitsmaximum, sich in der Mitte oder seitlich im Streifen befindet. Die seitliche Begrenzung des Streifens ist entweder eine scharfe oder eine allmählich abnehmende, verschwommene.

In den gradsichtigen Handspektroskopen sind die Flint- und Kronglasprismen nun so kombiniert, daß die ablenkende Wirkung für eine Mittelfarbe kompensiert ist, nach beiden Seiten hin aber eine Farbenzerstreuung stattfindet.

Die Folge ist, daß nur die jene Mittelfarben absorbierenden Banden gewöhnlich deutlich einzustellen sind, am violetten Ende hingegen bei vielen Blutderivaten nur eine mehr oder weniger

absolute Verdunkelung erscheint, obschon auch hier noch charakteristische Banden liegen. Diese treten in der Regel erst in Verdünnungen auf, in denen die im sichtbaren Spektralgebiet liegenden Banden vollständig oder fast vollständig verschwunden sind.

Der Raum, auf dem diese Banden im violetten Spektralteil liegen, ist verhältnismäßig eng begrenzt, immerhin sind die Unterschiede in der Lage groß genug, um sie mit zur Charakterisierung des betreffenden Blutfarbstoffderivates heranziehen zu können.

Das **Ultrasppektrioskop** hat neuerdings auch diese Banden dem Studium zugänglich gemacht.

Die Reduktion.

Wie schon erwähnt, geht der Blutfarbstoff durch Altern, Eintrocknen, Witterungseinflüsse, Temperatureinflüsse in verschiedene Zersetzungsprodukte über, denen ganz charakteristische Spektren zukommen.

Wichtiger noch ist für den Praktiker, zu wissen, daß diese Derivate auch durch chemische Verbindungen des Blutfarbstoffs mit Säuren, Alkalien entstehen, und daß sie, wenn sie **sauerstoffhaltig** sind, in den **sauerstofffreien** Zustand übergeführt werden können.

Dieser mit **Reduktion** bezeichnete Prozeß liefert wieder charakteristische Spektren, und er dient uns daher dazu, in Zweifelsfällen das Blutspektrum zu erhärten. Gewisse Farbstofflösungen — Fuchsin, Eosin, Säureanthrazen, Karmin, Indigou. a. m. — haben nämlich einzelne den Blutspektren entfernt ähnliche Spektren. Auf Zusatz des Reduktionsmittels reagieren sie aber natürlich in ganz anderer Weise wie Blut. Die Reduktion darf daher niemals versäumt werden.

Die **Reduktionsmittel** sind also leicht oxydable Körper, die dem Blutfarbstoff den locker gebundenen Sauerstoff entziehen. Je lockerer die Sauerstoffbindung ist, desto schneller vollzieht sich die Reduktion, desto leichter ist andererseits durch Schütteln mit Luft die Lösung wieder zu oxydieren. Diesen Wechsel kann man z. B. mit einer frischen Oxyhämoglobinslösung beliebig oft wiederholen.

Aus der großen Zahl von Reduktionsmitteln seien nur die gebräuchlicheren und empfehlenswerteren genannt:

1. **S t o k e s' R e a g e n s** ist weinsaures Eisenoxydul in ammoniakalischer Lösung. In 15,0 ccm Wasser wird ein erbsengroßes Stück (1,0 g) Ferrosulfat und eine Messerspitze (15,0 g) Weinsäure gelöst und Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion zugefügt. Die Lösung ist tiefdunkelgrün und jedesmal frisch zu bereiten. 5 Tropfen derselben in 10 ccm Wasser bilden das Reagens.

2. **W e i n s a u r e s Z i n n o x y d u l** in ammoniakalischer Lösung, in derselber Weise bereitet und verwendet.

3. **S c h w e f e l a m m o n i u m**, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in Ammoniaklösung gewonnen, zersetzt sich leicht an der Luft; es fällt Schwefeleisen aus, und es eignet sich daher nicht für alle Fälle, z. B. nicht für die Mikrospektroskopie, da die feinkörnige Trübung die Deutlichkeit des Gesichtsfeldes, des Spektrums beeinträchtigen kann. Aus diesem Grunde — wegen seines abscheulichen Geruches — und weil seine Wirkung schwächer ist, werden jetzt vielfach die folgenden Mittel bevorzugt. Dagegen ist das Schwefelammonium zur Differenzierung von Eisenrost und Pflanzenzellen unentbehrlich (s. Beimengungen).

4. **P h e n y l h y d r a z i n**. 10,0 ccm Natronlauge werden mit 100,0 ccm destilliertem Wasser, 5,0 ccm Hydrazinsulfat und 100,0 ccm (0,96 proz.) Alkohol gemischt und nach mehreren Stunden filtriert.

5. **H y d r o s c h w e f l i g s a u r e s N a t r i u m**. Eine Messerspitze voll zu 10,0 ccm destillierten Wassers. Durch Zersetzung des Mittels entstehen häufig zahlreiche Gasbläschen im mikroskopischen Gesichtsfeld, die etwas stören.

6. **H y d r a z i n h y d r a t** und **H y d r a z i n s u l f a t**. 50proz. Lösung, ausgezeichnet wegen seiner schnellen und andauernden Wirkung. Dieses Mittel ist daher das empfehlenswerteste.

Die forensisch wichtigen Blutspektren.

Bei der folgenden kurzen Erörterung und Beschreibung der für die Praxis wichtigen Blutspektren, deren Bezeichnungen im folgenden Teil öfters wiederkehren, ist die Lage der Absorptionsstreifen im wesentlichen mit Rücksicht auf die Spektralfarbe und die **F r a u n h o f e r**schen Linien angegeben, die Wellenlängen nur, soweit es mir angebracht erschien. Wer mit forensischen,

selbst mit filtrierten Extrakten arbeitet, weiß, wie schwierig es ist, die Begrenzung der Schattenbanden von der Wellenlängenskala exakt abzulesen.

Sodann ist die Breite der Absorptionen nicht unerheblich abhängig von der Schichtdicke des Blutfarbstoffes und von der Konzentration der Blutlösung.

Konzentriertere Lösungen oder dickere Schichten derselben liefern breitere Absorptionsstreifen, schwächere und weniger dicke Flüssigkeitsschichten schmalere. Eine bestimmte Konzentration ist aber mit dem forensischen Extrakt nur ganz approximativ herzustellen. Die Orientierung nach Wellenlängen würde also auf Schwierigkeiten stoßen.

Wichtiger schien mir, die Absorptionsmaxima, also die größte Intensität der Banden, die bei fortschreitender Verdünnung zuletzt verschwindet, möglichst nach Wellenlängen festzulegen. Denn diese ist von jenen Faktoren unabhängig.

Oxyhämoglobin (Oxy Hb).

Dünne (1—2proz.) Lösungen frischen Blutes in destilliertem Wasser sind hellrot und zeigen 2 Absorptionsstreifen zwischen den Fraunhofer'schen Linien D und E, also im Gelbgrün, beide scharf begrenzt, die linke Bande schmaler und intensiver und später verschwindend mit dem Absorptionsmaximum in λ 583, die rechte breitere, schwächere mit dem Maximum in λ 548.

Die absolute Verdunkelung im kurzwelligen violetten Ende des Spektrums beginnt bei F.

Im nicht sichtbaren violetten Teil hat Soret mit dem Fluoreszenzokular noch eine dritte Bande zwischen G und h = λ 415 festgestellt.

Methämoglobin (Met Hb).

Wenn Blut langsam eintrocknet, so zeigt es schon nach einigen Tagen — in blutbefleckter Wäsche unter gewöhnlichen Verhältnissen in 6—8 Tagen — nicht mehr in wäßriger Lösung reines Oxy Hb-Spektrum, sondern das Spektrum des Met Hb allein oder in Verbindung mit dem des Oxy Hb. Bei Belichtung, Fäulnis, durch Bakterienwirkung wird diese Umwandlung beschleunigt. Äußerlich zeigt sie sich durch Bräunung des Fleckens an. Auch im Körper kann Met Hb entstehen; post mortem wohl

nur kurze Zeit als Zwischenglied zwischen Oxy Hb und Hämatin; intra vitam bei Vergiftungen durch Säuren, chloresaures Kali, Morcheln, Phenazetin, Antifebrin, Anilin, Oxalsäure, übermangansaures Kali, Eisenvitriol u. a. Die Met Hb-Bildung führt zu schweren Vergiftungserscheinungen, wenn 40%, zum Tode, wenn etwa 66% des Blutes in Met Hb umgewandelt sind, weil es den Sauerstoff in zu fester Bindung hält, als daß er von den Geweben noch aufgenommen werden könnte.

R o s t , F r a n z , H e i s e und auch L e n h a r t z machen darauf aufmerksam, daß es nicht schwierig ist, beim Menschen im durchleuchteten Ohr die Oxy Hb-Banden spektroskopisch zu sehen; es könne also auch angenommen werden, daß in Vergiftungsfällen der charakteristische Met Hb-Streifen im Orange zu erkennen und dadurch die Diagnose zu sichern sei.

Met Hb kommt in zwei Modifikationen vor, je nachdem es sich in saurer (neutraler) oder in alkalischer Lösung befindet.

Die Lösung des s a u r e n (n e u t r a l e n) M e t H b ist s e p i a b r a u n und zeigt ein vierstreifiges Spektrum; nämlich, außer zwei der Lage der Oxy Hb-Streifen annähernd entsprechenden Banden im Gelbgrün zwischen D und E, eine schmale charakteristische, starke Bande im Orange, ziemlich in der Mitte zwischen C und D mit dem Absorptionsmaximum in λ 625 und schließlich eine vierte kräftige, breite Bande im Blaugrün, von b bis F reichend. Die absolute Verdunkelung beginnt hinter F, so daß ein schmaler heller Schein zwischen den beiden letzten Streifen zu sehen ist.

Ein gewöhnlich nicht sichtbarer fünfter Streifen liegt im Violett in λ 410.

Durch Zusatz von Ammoniak läßt sich das saure Met Hb in Oxy Hb umwandeln¹⁾, es klärt sich dabei auf, und die braune Farbe schlägt in Rot um.

Die Lösung des a l k a l i s c h e n M e t H b ist s c h ö n r o t und hat einen den beiden Oxy Hb-Banden vorgelagerten sogenannten Vorschlagstreifen im Orange gelb vor D mit dem Maximum in λ 595. Die absolute Verdunkelung beginnt vor F.

¹⁾ Nach Z i e m k e - M ü l l e r allerdings in alkalisches Met Hb.

Sulfhämoglobin.

Von L a n k e s t e r wurde 1874 in der Flüssigkeit von Leichenfäulnisblasen, die schmutzig grünrot ist, mit bläulicher Wasserstoffflamme brennt und durch Einwirkung des bei der Fäulnis sich bildenden SH_2 auf das Transsudat entsteht, ein besonderes Spektrum gefunden: neben den beiden Oxy Hb-Streifen eine schmale Bande im Orange, etwas näher an D gelegen als die des Met Hb.

Dieser Streifen erscheint zuweilen auch, wenn eine Oxy Hb-Lösung mit Schwefelammonium reduziert wird, neben dem Absorptionsstreifen des reduzierten Hämoglobins.

Reduziertes Hämoglobin (Hb).

Hb bildet sich spontan beim Stehen und bei der Fäulnis des Blutes infolge der Einwirkung im Blute vorhandener reduzierender Stoffe; die hellrote Farbe geht in dunkleres Rot über. Dünnere Lösungen zeigen sog. Dichroismus, sie schimmern im reflektierten Licht grünlich, im auf- und durchfallenden Licht rötlichviolett.

Oxy und Met Hb-Lösungen werden durch Reduktionsmittel zu (reduziertem) Hb umgewandelt. An die Stelle der diesbezüglichen Spektren tritt ein einziger, breiter, schwächerer Streifen von verwaschener Begrenzung in Gelbgrün zwischen D und E mit dem Maximum in λ 568. Die absolute Verdunkelung beginnt etwas hinter F nach G zu, so daß Blau noch lichtdurchlässig erscheint.

Im Violett ist eine Bande in λ 429 vorhanden.

Das Spektrum des sauerstofffreien Hb läßt sich durch Schütteln der Blutlösung mit Luft wieder in das des Oxy Hb verwandeln.

Kathämoglobin und Parahämoglobin.

K a t h ä m o g l o b i n und P a r a h ä m o g l o b i n sind wahrscheinlich weitere Zersetzungsprodukte des Blutfarbstoffes (v a n K l a v e r e n, T a k a y a m a, N e n c k i - S i e b e r). Beide stehen dem Hämatin im Aufbau näher, denn sie reduzieren wie dieses in Hämochromogen. Kat Hb bildet sich nach T a k a y a m a im Körper bei Vergiftung mit Chloroform,

Alkohol, Isoform, Jod und seinen Salzen und auch bei chloresurem Kali. Seine Lösung ist **b r a u n r o t**; die alkoholische hat ein zweistreifiges Spektrum ähnlich dem des Oxy Hb; die ammoniakalische ein dreistreifiges ähnlich dem des Met Hb.

Hämatin (Ht).

Wird das Blut noch älter oder durch irgendwelche Einflüsse noch weiter zersetzt, so zerfällt es in einen Eiweißkörper (nach Art der Globuline) und in den eisenhaltigen, schwefelfreien Farbstoff Hämatin. Nach etwa zwei Wochen kann man in einem freitrocknenden Blutfleck, wenn nicht günstige Verhältnisse (Feuchtigkeit, Lichtabschluß, mittlere Temperatur) ihn frisch erhalten, Ht erwarten; er sieht dann dunkelbraun bis graubraun aus, ist trocken, rissig, spröde und glänzend, besonders wenn er auf harter undurchlässiger Unterlage liegt.

Im Körper kann die Umwandlung in Ht erfolgen bei Verbrennungen infolge der Erhitzung des Blutes, bei Vergiftungen mit Ätzalkalien, starken Säuren, den sog. Blutgiften, hier meist auf dem Wege über Met Hb.

Im Reagenzglas kann Ht ebenfalls durch Säuren und Alkalien aus Blutlösungen dargestellt werden, und schließlich läuft auch die Technik der Konservierung anatomischer Präparate in natürlichen Farben durch das **K a y s e r l i n g s c h e** Verfahren darauf hinaus, die Entstehung von neutralem oder schwach saurem Ht zu begünstigen (**P u p p e**).

Reines Ht ist unlöslich in Wasser, löslich in Säuren und Alkalien, und dementsprechend zeigt sein Spektrum zwei Modifikationen.

Das **s a u r e** Ht ist charakterisiert durch einen intensiven, schmalen Streifen im Rot, ähnlich dem des sauren Met Hb, jedoch näher nach C liegend, mit dem Absorptionsmaximum in λ 640. Je stärker die zur Lösung benutzte Säure ist, und je länger sie auf den Blutfarbstoff einwirkte, desto näher rückt die Bande im Rot nach C hin an das Ende des Spektrums. Außer diesem Streifen hat das Spektrum noch drei weitere im Gelbgrün zwischen D und E, die meist nur undeutlich sichtbar sind. Hellblau und Dunkelblau (Indigo) sind deutlich sichtbar.

Die Lösungen des sauren Ht sind **b r a u n**.

Das **a l k a l i s c h e** Ht zeigt einen breiten schwachen Streifen bei D an der Grenze von Rotorange mit dem Maximum

in λ 600. Die absolute Verdunkelung beginnt vor E. = λ 530. Im Violett sind keine Banden gefunden.

Die Lösungen des alkalischen Ht sind rot bis rotbraun.

Hämochromogen (Hchg).

Hämochromogen bildet sich spontan oder auf künstlichem Wege durch Reduktion aus Ht; es wurde von H o p p e - S e y l e r entdeckt, von S t o k e s reduziertes Ht genannt. Es ist eisenhaltig, in saurer Lösung jedoch leicht zersetzlich zu Hämatoporphyrin unter Abgabe des Eisens. Bei Luftzutritt oder unter dem Einfluß starker Säuren oxydiert es wieder zu Ht.

Hämochromogenlösungen sind schön kirschrot und zeigen — alkalisch — ein sehr charakteristisches Spektrum, nämlich einen sehr intensiven, schmalen, scharf begrenzten Streifen im Gelb zwischen D und E mit dem Maximum in λ 559 und einen breiteren, schwächeren, unscharf begrenzten im Grün bei E mit dem Maximum in λ 529.

Die absolute Verdunkelung beginnt bei b. Im Violett ist ein Streifen in λ 411.

Das Hämochromogenspektrum ist sehr scharf und daher forensisch unentbehrlich. In einer alkalischen Ht-Lösung von der Verdünnung 1:80, die kein Spektrum mehr zeigt, erscheint sofort auf Zusatz des Reduktionsmittels das Hämochromogenspektrum. Dessen zweiter schwächerer Streifen verschwindet in Verdünnungen 1:300, der intensivere erste erst in Verdünnungen 1:16000 bei 1 cm dicker Schicht der Blutlösung.

Hämatoporphyrin (Htp).

Wird Blut längere Zeit der Erhitzung, Verkohlung ausgesetzt, so verwandelt sich das Ht schließlich unter Abgabe von Wasser und Eisen in das eisenfreie Htp.

M u l d e r stellte es 1844 zuerst synthetisch dar durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Ht, wobei sich das Eisen abspaltet; 1864 wurde es in seinen spektralen Eigenschaften von H o p p e - S e y l e r beschrieben; in die forensische Praxis führten es S t r u v e 1880 und K r a t t e r - H a m m e r l 1892 ein.

Intra vitam bildet es sich bei Vergiftungen (Sulfonal, Trional, Morphin, Blei) und schweren chronischen Krankheiten (Blut-

zersetzung durch Toxine). Bei Sulfonal- und Trional-Vergiftung kann der Urin Htp enthalten.

Htp zeigt in s a u r e r L ö s u n g (H_2SO_4) zwei scharfbegrenzte, intensive Streifen, der erste schmalere im Orange vor $D = \lambda 608-594$, der zweite breitere, intensivere im Gelbgrün, zwischen D und E ($\lambda 572-572$). Vor diesem zweiten Hauptschatten liegt ein sog. Vorschlagschatten, schwach und unscharf begrenzt ($\lambda 584-572$). Die absolute Verdunkelung beginnt vor F. Im Violett eine Bande $\lambda 404$ etwa.

Auch hier variiert die Lage der Schatten je nach der Herstellung der Lösung und ist abhängig von dem Material, dem Grad der Säure, der Temperatur und der Zeit der Einwirkung der H_2SO_4 . Der erste Streifen ist um so mehr nach Rot verschoben, je höher das Blut durch die H_2SO_4 erwärmt wird.

Die Lösungen des sauren Htp sind weinrot mit violetttem Schimmer.

Das Htp in alkalischer Lösung hat vier Absorptionsstreifen, von denen der vierte im Blau der breiteste und intensivste ist. $\lambda^1 = 620-612$, $\lambda^2 = 553-536$, $\lambda^3 = 594-568$, $\lambda^4 = 527-488$.

Es entsteht aus der sauren Modifikation durch alkalische Zusätze (Ammoniakalkohol, Pyridin). Die Lösung ist schön rot.

Kohlenoxydhämoglobin (CO Hb).

Im Wassergas 40%, Leuchtgas 5,0—20,0%, Kohlendunst 0,5—5,0%; im Tabakrauch; in der atmosphärischen Luft bis zu 0,03%; in der Expirationsluft 4,4%.

CO Hb zeigt 2 Absorptionsstreifen im Gelbgrün zwischen D und E, ähnlich den Streifen des Oxy Hb, indes beide mehr nach dem kurzwelligen Teil verschoben und enger zusammenstehend. Der erste hat sein Intensitätsmaximum in $\lambda 571$, der zweite in $\lambda 538$. Die absolute Verdunkelung beginnt bei F, so daß Blau noch sichtbar ist.

Im Violett liegt eine Bande in $\lambda 415$.

Auf Zusatz eines Reduktionsmittels werden die beiden erstgenannten Streifen im Gegensatz zu den Oxy Hb-Streifen nicht reduziert, fließen nicht zusammen. Ist das Blut, wie es meist der Fall ist, nicht völlig mit CO gesättigt, enthält also daneben

mehr oder weniger Oxy Hb, so wird dieses natürlich reduziert, und der Streifen des reduzierten Hb erscheint als ein Schatten zwischen den beiden CO Hb-Banden.

Das S t i c k o x y d - Hb hat ein dem CO Hb ähnliches Spektrum; die Banden sind etwas weiter auseinandergestellt als die des CO Hb, und der linke Streifen reicht über D hinaus bis ins Rot. Sie sind ebenfalls nicht reduzierbar.

Cyan(met)hämoglobin (Cyan[Met]Hb) und Cyanhämatin (Cyan Ht).

Sie entstehen durch Einwirkung von Blausäure und Cyankali auf Blut.

C y a n (M e t) Hb zeigt ein breites, unscharf begrenztes Band im Gelbgrün, die Strecke D bis b fast vollkommen ausfüllend. Das Intensitätsmaximum liegt etwa bei λ 545. Die absolute Verdunkelung beginnt bei F. Im Violett liegt eine Bande in λ 430—410.

Reines Cyan(Met)Hb reduziert zu Hb und läßt sich durch Schütteln mit Luft zu Oxy Hb oxydieren. Da indes neben dem Cyan (Met) Hb meist Cyan Ht vorhanden ist, welches zu Cyanhämochromogen reduziert, so treten die beiden Reduktionsspektren meist kombiniert auf.

C y a n H t zeigt eine nicht ganz so breite Bande, unscharf begrenzt, im Gelbgrün, zwischen D und E mit dem Maximum in λ 550 etwa.

Die absolute Verdunkelung beginnt ebenfalls bei F.

Im Vergleich zu der Hb-Bande sind also die Streifen des Cyan(Met)Hb und des Cyan Ht breiter und nach rechts verschoben.

P h o t o M e t H b (B o c k, K o b e r t), welches bei der Besonnung brauner Met Hb-Lösungen entsteht, ist identisch mit Cyan(Met)Hb. (Ziemke-Müller, Leers). Es bildet sich nur aus cyanhaltigen Met Hb-Lösungen und ist wie alle cyanwasserstoffhaltigen Blutlösungen s c h ö n r o t.

Cyanhämochromogen (Cyan Hchg).

Das Reduktionsspektrum des Cyan Ht ist ein selbständiges Spektrum und nicht identisch mit dem des Hchg. Es hat zwei Streifen im Gelbgrün, zwischen D und E, scharf begrenzt, die, im Gegensatz zu denen des Hchg, beide gleich stark sind, näher

beisammen stehen und beide nach dem langwelligen Teil, nach Rot, verschoben sind; ihr Maximum liegt in λ 567 und λ 538. Die absolute Verdunkelung beginnt hinter F.

Diese Verschiebung der Cyan Hchg-Streifen zeigt sich deutlich beim Zusatz von Cyankali zu einer Hchg.-Lösung (Z i e m k e - M ü l l e r).

Diese Blutspektren haben nicht alle das gleiche praktische Interesse. Einzelne sind so wenig scharf (wie das des alkalischen Ht), andere sind sich — zumal in forensischen trüben Extrakten — so ähnlich (saures Met Hb und saures Ht), daß ihre Differenzierung für den weniger Geübten oft schwierig ist. Sie sind obendrein vielfach kombiniert, wenn nicht aller Blutfarbstoff in demselben Grade der Zersetzung anheimgefallen ist, sich auf der gleichen Zerfallsstufe befindet. So findet sich das Met Hb-Spektrum fast stets mit dem des Oxy Hb, das des sauren Ht noch vielfach mit dem des sauren Met Hb vereinigt. Die dadurch entstehenden Spektren kann man sich leicht vorstellen, wenn man sich die beiden Spektralbilder aufeinandergelegt denkt. Der charakteristische Streifen im Rot der beiden letztgenannten Spektren erscheint dann z. B. erheblich breiter und in der Mitte zwischen C und D.

Lösungsmittel zur spektroskopischen Blutuntersuchung.

Ihre Zahl ist eine ganz beträchtliche. Alter, atmosphärische und chemische Einflüsse können, wie wir gesehen haben, den Blutfarbstoff in mehr oder weniger schwer lösliche Derivate umwandeln, so daß es manchmal ganz besonderer Mittel bedarf, um den Blutfarbstoff in Lösung zu bringen.

Die Fähigkeit zur Lösung in destilliertem Wasser behält das Blut längere Zeit nur unter besonders günstigen Umständen; z. B. wenn es in feuchter Atmosphäre unter Lichtabschluß liegt.

Blut fand sich an feuchtem Stallstroh noch nach vier Wochen so frisch, als ob es tags vorher hineingetropft wäre. Es gab mit destilliertem Wasser sofort eine tiefrote Lösung von Oxy Hb.

Findet die Blutspur diese günstigen Bedingungen nicht, trocknet sie auch nur an freier Luft und unter starker Tagesbelichtung aus, so geht ihre Löslichkeit bald zurück. Schon nach 14 Tagen zog destilliertes Wasser nur mehr eine schwachgelbliche

Lösung aus, nach drei Wochen war sie für dieses Lösungsmittel so gut wie unlöslich; nach weiteren zwei Wochen auch für Ammoniakwasser und Boraxlösung; nach weiteren vier Wochen sogar für Cyankalilösung.

Wir können also zweckmäßig von „schwachen“, „mittelstarken“, „starken“ und „stärksten“ Lösungsmitteln sprechen, je nach ihrer Extraktionsfähigkeit für die Blutfarbstoffderivate.

A. Zu den „schwachen“ gehören:

Wasser,
destilliertes Wasser,
physiologische Kochsalzlösung,
1—3 proz. Lösungen von Kal. und Natr. carbonicum,
Kal. und Natr. bicarbonicum,
Natr. boratum.

B. Zu den „mittelstarken“:

Kaltgesättigte Lösungen von
Kal. und Natr. bicarbonicum,
Natr. boratum,
Kal. und Natr. carbonicum,
Acid. boricum,
Acid. citricum,
15 proz. Lösung von Chinin. hydrochloricum,
Ammoniak-Wasser \overline{aa} .

C. Zu den „starken“:

Ammoniak-Alkohol (10 proz. Lösung),
alkoholische Kalilauge (1 proz. Lösung),
 $\frac{1}{10}$ Normal Natr.- und Kalilauge.
Resorcin (80 proz. Lösung),
Cyankali (10 proz. Lösung),
Kupfersulfat-Alkohol \overline{aa} ,
Kaliumazetat-Alkohol \overline{aa} ,
Formalin-Alkohol \overline{aa} ,
Karbolsäure-Alkohol \overline{aa} ,
Schwefelsäure-Alkohol,
Salzsäure-Alkohol,
Eisessig-Alkohol,
konz. Kalilauge-Alkohol
Pyridin.

D. Zu den „s t ä r k s t e n“:

konz. Schwefelsäure

konz. Salzsäure

Sup. Braun, ...

Ad A.: Diese Lösungsmittel verändern den Blutfarbstoff nicht; man erhält also, da sie sich bei ihrer Schwäche nur für relativ frische Blutflecken eignen, Blutfarbstofflösungen, die Oxy Hb- oder Met Hb-Spektrum zeigen.

Das gilt auch von den Alkalikarbonaten, wenigstens wenn die Lösung kalt benutzt wird; beim Erwärmen tritt jedoch auch hier schon Farbenveränderung aus Rot in Braun und demgemäß eine Änderung des Spektrums aus Hb in alkalisches Ht ein.

Ad B.: Die kaltgesättigten Lösungen der Alkalimetall- und Chininsalze, der Zitronensäure, Borsäure und des Ammoniaks geben dagegen schon lediglich Ht-Lösungen, d. h. sie verwandeln auch den Oxy- und Met Hb-haltigen Blutfarbstoff in Ht, je nach ihrem Alkali- oder Säuregehalt in alkalisches oder saures Ht.

Die gesättigten Lösungen der Alkalimetallsalze dürfen allerdings nicht erwärmt werden, wie man vielleicht versuchen könnte, um die Lösung des Blutfarbstoffs zu beschleunigen. Es tritt sonst Trübung und Gerinnung ein, wodurch die Durchsichtigkeit der Lösung erheblich leiden würde, oder der Blutfarbstoff fällt gar aus.

Ad C.: Diese Mittel sind sämtlich vorzügliche Ht-Extraktionsstoffe und geben je nach ihrem Säure- oder Alkaligehalt saures oder alkalisches Ht.

Die besonderen Spektren, die man mit Cyankalilösung erhält, sind oben schon beschrieben worden.

Die besonderen Verhältnisse, in denen KOH-Alkohol mit Pyridinzusatz zu bevorzugen ist, werden noch besprochen werden.

Ad D.: Endlich bleiben noch die D-Mittel zur Extraktion für das allen anderen Einwirkungen unzugängliche Derivat des Blutfarbstoffs, das Htp, in verkohltem Blut.

Die erste Frage, wenn man an die spektroskopische Untersuchung eines Blutfleckens geht, dessen Alter und Geschichte unbekannt sind, ist die, welches Lösungsmittel führt am schnellsten und sichersten und mit dem geringsten Materialverbrauch zum Ziel. Nur in wenigen Fällen gestattet die Größe der Blutspur ein Durchprobieren mehrerer Mittel.

Man läßt sich da am besten von der Farbe der Blutspur leiten.

Ist sie frischrot glänzend, noch festhaftend, so ist sie wohl den sub A genannten Mitteln noch zugänglich.

Darstellung des Oxy Hb-Hb-Spektrums:

Man mazeriert ein wenige mm² großes Stückchen aus dem blutbefleckten Zeug oder einige Schüppchen der Blutkruste in 1 ccm des Lösungsmittels in einem Reagenzröhrchen unter Schütteln. Ist die frischrote Lösung nicht genügend klar, wird sie durch wasserfeuchtes Papierfilter filtriert.

Sie zeigt jetzt das z w e i s t r e i f i g e O x y H b - S p e k - t r u m , allein oder mit dem Met Hb-Streifen im Rot. Nach dem Zusatz des Reduktionsmittels, 2—3 Tropfen Hydrazinhydrat, verschwinden diese Streifen und machen der breiten Bande des reduzierten Hb Platz, während gleichzeitig die rötliche Farbe der Lösung in eine gelblichrote übergeht. Durch Schütteln, also Oxydation, läßt sich für kurze Zeit das zweistreifige Oxy Hb-Spektrum wieder erzeugen, um nach einer Weile ruhigen Stehens der Lösung wieder reduziert zu werden. Diese wechselweise Reduktion und Oxydation erhärtet das Blutspektrum. Damit ist der Blutnachweis gesichert, und eine weitere Untersuchung mit anderen Mitteln würde sich erübrigen.

Fällt diese Probe negativ aus oder ist das Spektrum nicht deutlich genug, um einwandfrei zu sein, so kann die H c h g - Darstellung gleich angeschlossen werden. Um Material zu sparen, geschieht dies mit derselben Lösung, indem ein kleines Körnchen Kaliumhydrat in Substanz zugefügt und unter vorsichtigem Erwärmen gelöst wird. Es erscheinen dann meist sofort oder aber nach erneutem Zusatz von Hydrazinhydrat in der roten Lösung die beiden charakteristischen Streifen des HcHg

Darstellung des Ht-HcHg-Spektrums:

Spielt die Farbe des verdächtigen Fleckens ins Braunrote, Dunkelbraune, Braunschwärzliche oder Graubraune, ist der Flecken fest mit dem Gewebe verbunden, eine trockene, glänzende, krustige Verhärtung desselben bildend, zeigt er Risse oder Abschlüferungen auf harter Unterlage, so kann angenommen werden, daß der Blutfarbstoff schon das weitere Zersetzungsprodukt Ht erreicht hat.

Dann halte man sich nicht mit den A-Mitteln auf, sondern greife gleich zu den stärkeren Lösungsmitteln der Tab. B. und C.; und zwar je kleiner das Material, und je älter es zu sein scheint, desto mehr wende man sich zu den C-Mitteln, als den schnellsten und sichersten.

Je nachdem man hier ein saures oder alkalisches Lösungsmittel bevorzugt, wird das Spektrum verschieden ausfallen.

Nehmen wir von jedem ein Beispiel.

Darstellung des alkalischen Ht:

Durch Mazeration des Zeugstückchens oder der abgekratzten Schüppchen in 1 ccm 10 proz. Kalilauge, die bei alten Blutspuren längere Zeit, bis zu mehreren Stunden zuweilen notwendig ist, durch vorsichtiges Erwärmen der Lösung im Probierröhrchen jedoch wesentlich abgekürzt werden kann, entsteht eine ev. durch Filtration geklärte rotbräunliche Lösung; ist genügend Blutfarbstoff in Lösung gegangen, so zeigt sie das Spektrum des alkalischen Ht, eine breite schwache Bande im Rotorange bei D. Sehr oft ist die Lösung aber nicht konzentriert genug, um dieses schwache Spektrum zu geben. Das ist gleichgültig. Auf Zusatz des Reduktionsmittels erscheint dennoch das überaus scharfe charakteristische Hchg-Spektrum in der nunmehr tiefroten Lösung. Selbst wenn bei diesem die zweite schwächere Bande rechts fehlen oder nur ganz undeutlich sein sollte, ist der erste Streifen meist kräftig und seine Lage charakteristisch genug, um den Blutnachweis zu sichern.

Darstellung des sauren Ht:

Verwendet man eine Säure als Extraktionsmittel, z. B. Eisessig oder Salzsäure, auch hier wieder die Lösung des Blutfarbstoffes durch Erwärmung beschleunigend, wenn es sich um eine sehr alte Blutspur handelt, so erhält man das Spektrum des sauren Ht in der braunen Lösung mit der charakteristischen, in Rot gelegenen, schmalen, intensiven Bande. Je schärfer die Säure, und je stärker die Erhitzung, desto mehr rückt der Streifen ans Ende, so daß er manchmal nach der linken Seite keine Begrenzung hat. Die drei anderen in Gelb und Grün gelegenen Banden des sauren Ht sind gewöhnlich so schwach entwickelt,

daß sie eben nur angedeutet, jedenfalls nicht abzugrenzen sind. Nun folgt die Reduktion.

Da das saure Ht das Reduktionsspektrum Hehg aber nicht direkt gibt, bedarf es zunächst der Alkalisierung der Blutlösung mittels Ammoniaks, Kalilauge oder Pyridins. Wenige Tropfen werden genügen, um das Spektrum des sauren Ht zum Verschwinden zu bringen. Mag dabei nun das alkalische Ht auftreten oder nicht, nach Reduktion der Lösung wird das Spektrum des Hämo-chromogens erscheinen.

Zu allen Extraktionsmitteln kann ein Zusatz von — wenigen Tropfen bis \overline{aa} — Alkohol gemacht werden. Neben der Erhöhung der Extraktionskraft wirkt er durch Lösung der Fette klärend, so daß er die Filtration, die natürlich nicht erwünscht ist, weil sie Materialverlust bedeutet — es bleibt immer Blutfarbstoff im Filter — oft erspart.

Noch schärfer wirkt in dieser Beziehung, wie wir schon bei der Kristallisationsprobe besprochen haben, Ätherzusatz.

Über die Ausschaltung anderer Beimengungen siehe später.

Natürlich beschränkt sich die Benutzung der B- und C-Mittel nicht auf die Extraktion von Ht-haltigen Blutspuren; sie extrahieren auch alle den A-Mitteln zugänglichen frischeren Blutspuren.

Darstellung des Htp-Spektrums:

Gibt das Aussehen der Blutspur der Vermutung Raum, daß sie einer starken Erhitzung oder gar Verkohlung ausgesetzt war, so kann man mit den D-Mitteln die Darstellung des *sauren* oder des *alkalischen Htp* versuchen, die beide sehr charakteristische Spektren geben.

Man mazeriert die Blutspur mit 1 ccm konz. H_2SO_4 , bis eine zart weinrote Extraktionsflüssigkeit erhalten wird. Manchmal sind dazu 1—2 Stunden notwendig. Dieselbe zeigt das zweistreifige Spektrum des *sauren Htp*.

Die Probe kann im Reagenzröhrchen angestellt werden oder zwischen zwei Objektträgern. Man mazeriert in letzterem Falle die verkohlte Blutspur oder das Zeugstückchen gründlich mit H_2SO_4 auf dem Objektträger, quetscht mit dem anderen das Objekt breit und spektroskopiert, indem man die beiden Objektträger gegen das Licht hält. An den Rändern, in lichten Zwischenräumen

des Objekts oder auch in der gebräunten H_2SO_4 erhält man ein Htp-Spektrum.

Die Probe eignet sich auch für flüssige blutverdächtige Medien, nur empfiehlt es sich hier, zu der reinen konz. H_2SO_4 die Flüssigkeit tropfenweise unter Schütteln zuzugeben, um eine explosive Erhitzung zu vermeiden.

Diese Probe ist sehr scharf, man braucht nur sehr wenig Blut dazu, und sie gelang noch, wenn dieses mehrere Stunden auf 210° erhitzt wurde (H a m m e r l).

Aus der sauren Htp-Lösung erhält man durch vorsichtige tropfenweise Alkalisierung mit Ammoniak-Alkohol abs. aa oder besser Pyridin das vierstreifige Spektrum des a l k a l i s c h e n H t p in schön roter Lösung.

Auch in der Lösung des sauren Htp, die oft nach der Filtration noch trüb ist, klärt ein Zusatz weniger Tropfen Alkohol das Spektrum häufig auf.

Mikrospektroskopie.

Es scheint fast in Vergessenheit zu geraten, daß P r e y e r schon 1871 in seiner Abhandlung über die Blutkristalle die Mikrospektroskopie zum Nachweis kleinster Spuren von Blutrot empfiehlt und bemerkt, daß alle anderen Methoden, Blut nachzuweisen, an Empfindlichkeit hinter ihr zurückstehen. Wir können dieses Urteil auch heute noch voll und ganz unterschreiben. Die Mikrospektroskopie ist uns in der forensischen Praxis das unentbehrlichste Hilfsmittel geworden.

Sie arbeitet schnell, sicher, ist leicht auszuführen und bedarf des geringsten Materials von allen Untersuchungsmethoden. Ein Stäubchen genügt, um daraus ein deutliches Mikrospektrum des Hchg oder Htp darzustellen.

Der Mikrospektralapparat

vereinigt Mikroskop und Spektroskop. Das gebräuchliche von A b b e konstruierte Spektralokular läßt sich an jedem Mikroskop anbringen, indem man es mit dem gewöhnlichen Okular desselben auswechselt. Man klappt den Spektralapparat zunächst auf und stellt sich das Objekt mit passender Vergrößerung mikroskopisch ein. Nach dem Wiederklappen läßt sich die passende Licht-

schärfe mittels zweier durch eine Schraube bewegbarer Kollimator-Spaltbacken regulieren.

Der Apparat enthält eine Wellenlängen-Skala, deren Bild mittels Spiegels in die Ebene des Spektrums geworfen wird, und eine Vorrichtung zur Aufnahme der Kontrollblutlösung, deren Spektrum ebenfalls mittels eines Spiegels neben dem Spektralbild des zu untersuchenden Objektes erscheint.

Um mit einer Lichtquelle für die Beleuchtung der Skala und des Vergleichsprismas auszukommen, ist diese in der Mitte zwischen den Spiegeln, welche Skala und Vergleichslösung erhellen, anzubringen.

Die Einstellung der Skala für die Sehweite des Untersuchenden erfolgt durch Verschieben der Hülse.

Der Kollimatorspalt hat 2 Schrauben, eine, die seine Länge, eine andere, die seine Weite reguliert.

Die Skala ist durch die Schraube so einzustellen, daß die *F r a u n h o f e r s c h e* Linie D (die Natriumlinie) mit der Wellenlänge 589 zusammenfällt. Durch Drehung der Skalenfassung sind die Teilstriche der Wellenlängenskala mit den *F r a u n h o f e r s c h e n* Linien parallel zu stellen.

Da es sich, wenn man zur Mikrospektroskopie greift, wohl stets um kleinste oder kleine Blut-

partikelchen handelt, mit denen nicht erst Versuche angestellt werden können, so beschränkt sich der Nachweis hauptsächlich auf die Darstellung des Hchg- und des Htp-Spektrums.

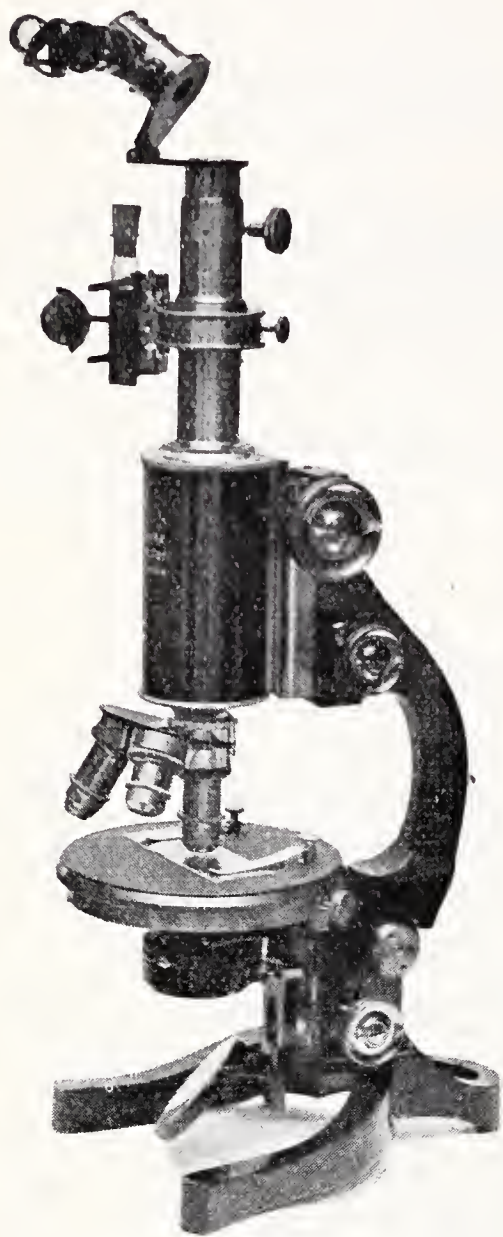


Fig. 15.

Mikrospektroskop
mit aufgeklapptem Spektral-
apparat.

Darstellung des Ht-Hchg-Mikrospektrums.

Das kleine verdächtige Partikelchen wird auf dem Objektträger mit einem Tropfen konz. KOH oder Pyridin versetzt und zunächst mikroskopisch bei schwacher und starker Vergrößerung betrachtet. Man sieht — nehmen wir an, es sei ein von einem Instrument abgekratztes sprödes braunes Schüppchen oder eine aus einem Kleidungsstück gezogene Stofffaser — wie das Partikelchen sich nach und nach rötet, besonders die Ränder bzw. die Faserenden erscheinen bald hell- bis rubinrot und durchscheinend. Dann wechselt man das Okular des Mikroskops mit dem Mikrospektroskop aus, stellt eine Randpartie mikroskopisch in den Kollimatorspalt exakt ein, derart, daß sie die untere Hälfte desselben einnimmt, die obere für das Kontrollspektrum freiläßt, und klappt den Spektralapparat zu.

Meist sieht man jetzt schon, die Kollimatorschraube handhabend, das Hchg-Spektrum deutlich genug. Andernfalls fügt man mit der Pipette einen kleinen Tropfen eines Reduktionsmittels (nicht Schwefelammon wegen der Trübung des Gesichtsfeldes) unter das Deckgläschen zu; die Hchg-Rötung des vorher braunen Partikelchens wird noch schärfer und das Spektrum noch deutlicher werden.

Der erste schmale intensivere Streifen desselben genügt zur Sicherstellung der Diagnose, wenn er mit dem des Kontrollblutes in der Lage genau übereinstimmt.

Das Kontrollhämochromogen ist in derselben Weise zu bereiten wie das des untersuchten Objektes. Die Stärke der Lösung und also auch des Spektrums muß annähernd dieselbe sein wie

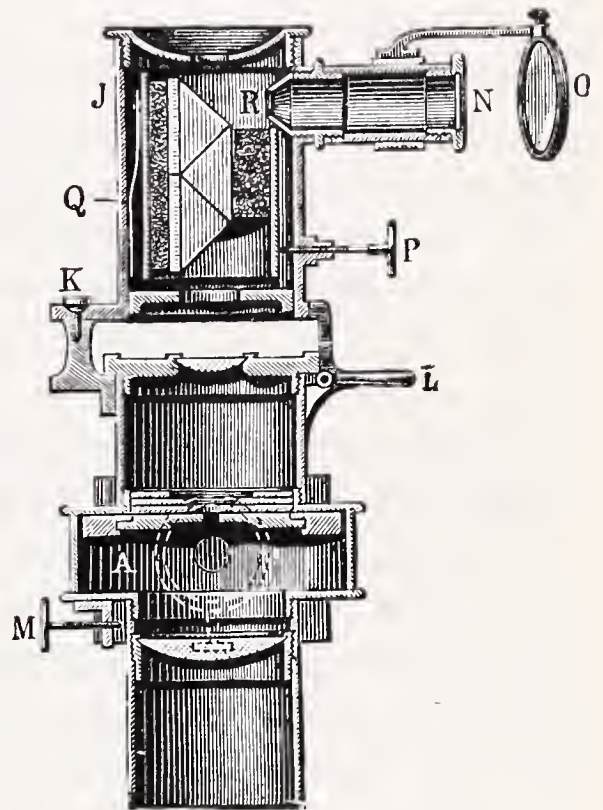


Fig. 16.

Spektral-Okular nach Abbe.
Q der aufklappbare Spektralteil mit Amici-Prisma, Wellenlängenskala (in R-N) und Beleuchtungsspiegel. A der Okularteil mit Vergleichsprisma.

die des Objektes, da die Breite der Hchg-Banden mit der Dichte des Blutfarbstoffes wechselt. Die Übereinstimmung der Absorptionsstreifen in der Lage kann aber nur dann exakt festgestellt werden, wenn sie gleiche Stärke und Breite haben.

Dunkle Querstreifen im Spektrum sind verursacht durch die Niveaudifferenzen des Partikelchens, die ungleiche Lichtbrechung bewirken.

Ist die Blutspur sehr schwer löslich, so kann die Mazeration mit Pyridin durch Erwärmen (nicht zu stark, da es leicht aufflammt) beschleunigt werden, und zwar auf dem Objektträger.

An Stelle des Pyridins, welches ich mit Corin für eines der besten Blutextraktionsmittel halte, kann natürlich jedes andere alkalische Ht und durch Reduktion Hchg gebende Extraktionsmittel benutzt und auch hier durch Erwärmen die Lösung des Blutfarbstoffes beschleunigt werden.

Darstellung des Htp-Mikrospektrums.

Handelte es sich um stark erhitztes oder verkohltes Blut, so läßt sich in derselben Weise saures Htp darstellen.

Das Blutpartikelchen wird auf dem Objektträger mit 1 Tropfen konz. H_2SO_4 einige Zeit hindurch mazeriert, mit Deckelglas bedeckt und mikroskopisch eine dünne Randpartie, die violettrot schimmert, eingestellt. Sie zeigt das Spektrum des s a u r e n H t p, gesichert durch die Übereinstimmung mit dem der Kontrollösung.

Nehmen wir die H_2SO_4 mit Fließpapier von dem Partikelehen vorsichtig fort und fügen 1 Tropfen Ammoniak-Alkohol oder besser Pyridin hinzu, so erscheint das Spektrum des a l k a l i s c h e n H t p.

Auch aus der durch Pyridin erhaltenen Hchg-Lösung läßt sich das Spektrum des Htp noch erhalten, indem man das Pyridin mit Fließpapier absaugt und konz. Schwefelsäure zugibt. So kann also mit ein und demselben Partikelchen Hchg und Htp dargestellt werden, und diese Möglichkeit macht die Mikrospektroskopie zu dem sichersten von allen Blutnachweisen.

Übrigens läßt sich im Notfall auch mit einem Taschenspektroskop mikrospektroskopieren. Man stellt mit starker Vergrößerung das Blutpartikelchen im Mikroskop ein, entfernt dessen

Okular und ersetzt dieses durch das möglichst tief in den Tubus des Mikroskopes eingeführte Handspektroskop. Es gelingt vielfach, auch so das Spektrum zu erkennen.

Störungen des spektroskopischen Blutnachweises und Ausschaltung derselben.

Hier kommen zunächst alle die Momente in Betracht, die den Blutnachweis überhaupt beeinträchtigen können (s. S. 19 ff.), also weitgehende Zersetzung und Zerstörung des Blutfarbstoffes durch Erhitzung, Besonnung, Fäulnis, durch Chemikalien (Salpetersäure, Terpentinöl, Blausäure, Oxalsäure, Alaun u. a.).

Es wird sich darum handeln, die noch vorhandenen Reste des Blutfarbstoffes zu sammeln, auf einen möglichst engen Raum zu konzentrieren, um ein Spektrum noch zu erhalten.

Nicht immer wird es gelingen, Blutfarbstoff, der zweifellos vorhanden war, nachzuweisen. Ein selbst stark mit Blut besudeltes Kleidungsstück läßt sich, solange das Blut noch nicht eingetrocknet ist, verhältnismäßig leicht mit Wasser auswaschen. Gegenstände lassen sich so abspülen, daß auch in den Fugen und Ritzen nichts mehr haftet. Selbst nach Tagen, wenn das Blut schon angetrocknet ist, bringt ein längeres Auslaugen in heißer Soda- oder Seifenlauge noch fast alles Blut fort. Das ist schon so allgemein bekannt, daß uns mehr und mehr aus dem Waschfaß beschlagnahmte Gegenstände zur Untersuchung zugehen.

Hier nutzt die Mikrospektroskopie nichts; denn bei ihr ist Voraussetzung, daß das Partikelchen, mit welchem die Hchg- (oder Htp-) Probe angestellt wird, den Blutfarbstoff in einer gewissen Konzentration enthält. Ist diese zu gering, dann sieht man vielleicht nach dem Zusatz des Reduktionsmittels noch einen schwachen Farbenumschlag in Gelbrot, aber das Hchg-Spektrum bleibt aus.

Die Intensität der im Spektralapparate in Kraft tretenden Absorptionerscheinungen des Blutes ist abhängig von der Menge der auf die einfallenden Lichtstrahlen wirkenden Farbstoffmolekeln. Und diese Menge hängt natürlich bei gleichbleibender Dicke der absorbierenden Schichten von der Konzentration der Lösungen und bei gleicher Konzentration von der Dicke der Schicht ab.

Ich kann also sowohl durch die Dickenvermehrung der Flüssigkeitsschicht als auch durch Vermehrung der Konzentration (Einengung der Lösung) die Absorption vermehren.

Eine aus frischem Blut bereitete Oxy Hb-Lösung in destill. Wasser zeigt filtriert im gewöhnlichen Reagenzröhrchen, also in einer Schichtdicke von etwa 1,5 cm, noch in einer Verdünnung von 1:5000 (1 ccm Blut auf 5000 ccm Wasser) ein schwaches, eben identifizierbares Oxy Hb-Spektrum; in einem Glasgefäß von 20 cm Weite, also ebensolcher Schichtdicke, ist dies noch in einer Verdünnung von 1 : 20000 der Fall.

Die Differenzierbarkeit des Helg-Spektrums reicht bei einer Schichtdicke von 1,5 cm bis zu einer Verdünnung von 1 : 16000 und erhöht sich auch hier bei zunehmender Schichtdicke.

Ein einfaches Mittel, die absorbierende Schicht zu vermehren, ist die Spektroskopie durch die ganze Länge des Reagenzröhrchens. Man setzt das Handspektroskop auf die Öffnung des vertikal gestellten (in einem Stativ befestigten) Reagenzglases und wirft durch einen schräg gestellten Spiegel von unten Licht durch die Flüssigkeitssäule und das Spektroskop. Wenn das Reagenzglas dabei einen planen Boden hat, wie I p s e ñ vorschlägt, so ist das von Vorteil.

Um den Blutfarbstoff in einer größeren Flüssigkeitsmenge zu konzentrieren, kann man diese bis auf wenige Tropfen im Wasserbad bei mäßiger Wärme eindampfen und den Rest spektroskopisch untersuchen.

Schneller erreicht man die Einengung mit der von mir angegebenen P y r i d i n p r o b e :

Man mazeriert im Reagenzröhrchen von dem blutverdächtigen Objekt nach feinsten Zerteilung so viel wie möglich mit konz. Kalilauge, der man einige Tropfen absol. Alkohol zusetzt.

Dieses Lösungsmittel ist, erwärmt angewandt, eines der schärfsten und eignet sich für jedes Blutderivat, auch für stark erhitztes Blut, abgesehen von ganz verkohltem bereits in Htp übergegangenem. Indessen auch an verkohlten Objekten sind nicht selten einzelne Stellen, einige Zeugfasern in der Tiefe oder am Rande weniger betroffen, so daß sich aus diesen mit der alkoholischen KOH noch ein hämatinhaltiger Extrakt erlangen läßt.

Die Erwärmung beschleunigt und erhöht die Extraktion, der Alkohol verhütet durch seinen höheren Siedepunkt eine zu starke

Erhitzung, und durch die Verdunstung desselben findet noch eine geringe Einengung der Lösung statt.

Zu dem erkalteten Extrakt kommen, während das Objekt in der Lösung bleibt, 2—3 Tropfen Pyridin. Schüttelt man jetzt einige Male das Röhrchen, so bildet sich eine Emulsion, da das Pyridin sich mit der konz. KOH nicht vermischt. Nach Hinzufügung von 1 Tropfen eines Reduktionsmittels schüttelt man wieder und überläßt das Röhrchen einige Minuten sich selbst. Die spezifisch schwerere KOH senkt sich dann aus der Emulsion mit dem größeren Teil des Objektes zu Boden, das leichtere Pyridin steigt, beladen mit dem in Lösung gegangenen Blutfarbstoff, an die Oberfläche. Durch Erwärmen kann diese Scheidung beschleunigt werden. Zwischen den beiden Flüssigkeiten aber sammeln sich die korpuskulären Elemente aus der Lösung, die leichter als die KOH, aber schwerer als das Pyridin sind (s. Taf. II, Fig. 2).

Diese stören also die Spektroskopie nicht mehr. — Aller Blutfarbstoff ist jetzt auf dem engen Raum der Pyridinschicht vereinigt, die Kalilauge ist frei davon. Es ist klar, daß diese Konzentration des Blutfarbstoffes dem spektroskopischen Nachweis günstig ist. Wäre dieser in der ganzen Lösung in einer Verdünnung von 1:30000 nicht mehr zu ermitteln, gibt er in der Pyridinschicht, als dem 5. Teil der Lösung etwa, also in einer Konzentration von 1:6000 ein sehr scharfes Hchg-Spektrum.

Man kann das Blutobjekt von der KOH ruhig weiter auslaugen und die Probe einige Zeit verschlossen — weil das Pyridin sehr flüchtig ist — stehen lassen. Schüttelt man dann wieder und läßt wieder absitzen, so wird auch der weiterhin gelöste Blutfarbstoff von dem Pyridin mit nach oben genommen. Das Spektrum wird noch intensiver.

Bleibt aber das Hchg-Spektrum trotzdem aus, oder ist es zu schwach, um forensisch verwertet werden zu können, so besteht noch die Möglichkeit, die Pyridinschicht abzupipettieren und auf dem Objektträger Tropfen für Tropfen zu verdampfen, so zwar, daß jeder folgende den vorhergehenden deckt. Es gelingt dann vielfach noch, durch diese weitere Anreicherung ein Mikrospektrum zu erhalten.

Es entsteht ein rötlicher Flecken, der entweder ohne weiteres oder aber nach Zusatz einer geringen Menge des Reduktionsmittels Hchg-Spektrum gibt.

Ein Mittel, um schnell den Blutfarbstoff aus größeren Flüssigkeitsmengen auszuschcheiden, hat neuerdings auch K ó s s a angegeben. Gleiche Teile der Flüssigkeit und 90 proz. Alkohols werden gemischt, sodann ein halber Teil Chloroform zugefügt. Das emulgierte Chloroform setzt sich wieder ab, und zwischen ihm und der Flüssigkeit erscheint in zarten roten Flocken der Blutfarbstoff, der auf hinter dem Reagenzröhrchen gehaltenem weißen Papier deutlich sichtbar wird. — Dabei wird man aber nicht stehen bleiben, vielmehr den Inhalt des Röhrchens durch ein Papierfilter schicken, auf dem der Blutfarbstoff zurückbleibt und dem mikrospektroskopischen Nachweis zugänglich wird.

Störend sind bei der Spektroskopie ferner Beimengungen k o r p u s k u l ä r e r N a t u r, die, in feinsten Verteilung aufgeschwemmt, die Extraktionsflüssigkeit undurchsichtig, das Spektrum undeutlich machen: Zeugfäserchen, Staubteilchen, erdige Bestandteile, fein verteilte Mineralien, besonders der amorphe Eisenrost. Dann aber auch Fette.

Diese lassen sich durch Alkohol- oder Ätherzusatz entfernen. Die Corpuscula durch Filtrieren oder Zentrifugieren. Letzteres ist indes zeitraubend und nicht immer Gelegenheit dazu, und die Filtration eignet sich nur, wenn reichlich Blutfarbstoff vorhanden ist, da ein Teil desselben durch das Filter zurückgehalten wird.

Bessere und schnellere Dienste leistet auch hier die oben beschriebene Pyridinprobe, die die korpuskulären Elemente in der mittleren Schicht sammelt und das Blutfarbstoff beladene Pyridin frei davon hält.

Endlich sind es Farbstoffe, die die Spektroskopierbarkeit der Extraktionsflüssigkeit beeinträchtigen. Die meisten Gewebe der Kleidungsstücke sind mit leicht löslichen Farbstoffen imprägniert, und sie geben von diesen so viel in die Lösung ab, daß das Spektrum des eventuell in der Lösung vorhandenen Blutfarbstoffes mehr oder weniger vollständig verdeckt ist von dem Spektrum des Gewebefarbstoffes. Besonders der zum Färben der Baumwollgewebe (Arbeiterhosen, Blusen, Schürzen, Militär- und Eisenbahnertuche) gebrauchte Indigo ist sehr störend, denn er hat in alkalischer Lösung ein spezifisches Spektrum, welches in starker Konzentration dem des sauren Htp. in der Lage fast genau ent-

spricht, in schwächerer nur den rechten stärkeren Absorptionsstreifen zeigt, und zwar in der Gegend der linken stärkeren Hchg-Bande.

Andere Farben: Thion, Thioindigorot, Soliddruckgrün, finden sich in bunten Hemden; Alizarin, Säureanthrazen, Diamantbordeaux und Chromgelb, einzeln oder gemischt und mit essigsaurem Chrom, Nickel oder Kobalt gebeizt, in wollenen und halbwollenen Stoffen; Benzidin, Sulfon, Toluylen, Chloramin, Diazo in Wolle, Baumwolle und Kunstwolle.

Je länger die Extraktion erforderlich ist, also je älter der Blutflecken, desto mehr geht von dem Gewebsfarbstoff in Lösung. Die Filtration hilft hier natürlich nichts, denn der Farbstoff geht leicht durchs Filter.

Diese Störung auszuschalten, haben sich zuerst K r a t t e r , I p s e n und Z i e m k e bemüht und empfahlen zu diesem Zweck die Darstellung des sauren bzw. alkalischen Htp.

Z i e m k e behandelt das Zeugstück zunächst mit kalter H_2SO_4 vor, um die erste Mazerationsflüssigkeit mit den verkohlten Stoffteilchen zu entfernen.

Den Rückstand, der das Blut noch enthält, mazeriert er unter Erwärmen 24 Stunden lang mit konz. H_2SO_4 . Die entstehende schwärzliche Flüssigkeit wird durch Glaswolle filtriert, das Filtrat mit dem 10—20 fachen Volumen destillierten Wassers ganz allmählich verdünnt und dadurch das Htp in rotbraunen Flocken ausgefällt, während die Verunreinigungen in der H_2SO_4 gelöst zurückbleiben.

Nach dem Absitzen des Htp, der Abdekantierung der überstehenden Flüssigkeit wird der Htp-Rückstand mit Wasser mehrmals gewaschen, filtriert, über H_2SO_4 an der Luft getrocknet und entweder mit warmer H_2SO_4 verrieben, wonach das Spektrum des sauren Htp erscheint, oder mit Ammoniak- oder Natronlauge-Alkohol \overline{aa} versetzt, wodurch das vierstreifige Spektrum des alkalischen Htp nach erneuter Filtration erhalten wird.

C o r i n setzt nach Neutralisation der sauren Lösung mittels Ammoniaks direkt, ohne Trocknung, in der Wärme reines Pyridin hinzu. Man erhält so in wenigen Minuten, wie ich bestätigen kann, ein schönes, klares alkalisches Htp-Spektrum.

T a k a y a m a modifizierte Z i e m k e s Darstellungsweise in folgender Weise: Er mazeriert das Zeugstück (1 cm^2) 5—7 Tage

mit 1 ccm konz. H_2SO_4 ; erhitzt die Lösung 10—12 Sekunden unter Schütteln (nicht länger, weil sonst der Blutfarbstoff zerstört würde), kühlt ab, fügt vorsichtig unter Schütteln 2 ccm destill. Wasser hinzu, filtriert durch angefeuchtetes Papierfilter und erhält so das Spektrum des sauren Htp.

Die Gewebefarbstoffe und die verkohlten organischen Substanzen bleiben auf dem Filter, d. h. sie sollten es; es geht aber trotzdem ein Teil durch dasselbe, und zwar je länger die Filtration dauert, desto mehr. Daher ist nur das erste Filtrat zu benutzen. Was aber noch schlimmer ist, es bleibt auch ein Teil des Blutfarbstoffes auf dem Filter. Denn es wird ein Teil des Htp von der sich abscheidenden Kohle mitgerissen. T a k a y a m a meint daher, daß die Probe sich nicht eignet, wenn die Beimengung verkohlter Substanzen im Verhältnis zum Blutfarbstoff sehr groß, etwa 20:1 sei.

Die Probe ist sehr zeitraubend, läßt sich allerdings durch v o r s i c h t i g e s Erwärmen auf einige Stunden abkürzen.

Für Indigogewebe eignet sie sich jedoch von allen Proben noch am besten, ausgenommen vielleicht die Kristallproben, die später noch besprochen werden sollen.

Ich selbst habe mit Vorteil die oben beschriebene Pyridinprobe in solchen Fällen angewandt, die es ermöglichen, den Blutfarbstoff so zu sammeln und gleichsam anzureichern, daß er den allerdings, wenn auch in geringerem Maße, in die Pyridinschicht übergehenden Gewebefarbstoff überbietet, und sein Spektrum überwiegt. Besonders an der Berührungszone der beiden Schichten (KOH und Pyridin) ist vielfach das Hchg-Spektrum intensiv und charakteristisch genug, um identifiziert werden zu können.

Schließlich hat C o r i n jüngst gezeigt, daß hier auch die Kristallprobe gute Resultate gibt.

Er löst den Blutfarbstoff mit Pyridin allein, eventuell unter Erwärmen, entfernt das Objekt aus der Lösung, verdampft diese vollständig — das Pyridin verdampft seinerseits ohne Rückstand — auf dem Objektträger. Zu dem zurückbleibenden rötlichbraunen Flecken von alkalischem Ht fügt er kleinste Tröpfchen Eisessig, nicht größer als die äußersten Ringe des Fleckens. Nachdem diese an der freien Luft getrocknet sind, fügt er ein letztes Tröpfchen Eisessig hinzu, deckt mit Deckgläschen zu und erwärmt vorsichtig bei geringer Temperatur. Hat sich der Eisessig gebräunt, so läßt er ihn nunmehr ruhig in einigen Stunden spontan eintrocknen.

Nach und nach schießen dann Häminkristalle auf, wovon man sich von Zeit zu Zeit mikroskopisch überzeugt; vorzugsweise an den Rändern des Präparates.

Um auch Htp darzustellen, bedurfte es nur, nach Eindampfung der Pyridinblutlösung auf dem Objektträger, statt des Eisessigs der Zufügung eines Tröpfchens H_2SO_4 ; der Rückstand zeigte das Spektrum des sauren Htp.

Diese letztere Methode ist meiner Erfahrung nach noch vorzuziehen, denn die Kristalldarstellung ist langwieriger, diffiziler und gelingt nicht immer. Ich stimme mit dem Urteil Corins überein, daß die Häminprobe überhaupt eine besondere Vertrautheit mit ihrer Ausführung bedarf.

Spektro-Photographie.

Es kann Verhältnisse geben, wo ein Interesse daran besteht, das Ergebnis der spektralanalytischen Untersuchung einer verdächtigen Spur oder einer Blutlösung — z. B. bei Vergiftungen — festzuhalten und dem Gericht demonstrieren zu können.

Hierzu dient ein besonderer Apparat, der Spektroph; allerdings auch schon ein gewöhnliches Bunsenspektroskop, wenn man dessen Fernrohr durch eine geeignete Kamera mit Objektiv ersetzt.

Es gelingt mit Hilfe der Photographie, die Lage und Intensität der Absorptionsstreifen nicht nur des sichtbaren Spektralteils, sondern auch die des violetten und ultravioletten Teils exakt festzustellen, so daß diese Art der Asservierung durch Spektrogramme voraussichtlich eine Zukunft hat. Das spektrale Verhalten der Blutfarbstofflösungen im violetten Teil ist deshalb von Wert, weil es in viel höheren Verdünnungsgraden der Blutlösung zum Ausdruck kommt.

* * *

Anhangsweise seien einige Fälle von Vergiftungen erwähnt, in welchen der Sachverständige in die Lage kommen kann, durch eine spektroskopische Untersuchung am Obduktionstisch die Diagnose zu sichern.

1. Bei manchen Vergiftungen mit ätzenden Alkalien und scharfen Säuren läßt sich aus Partikeln der verätzten Magenschleimhaut oder aus dem blutigen Mageninhalt ein Ht- bzw. Hchg-Spektrum darstellen.

Man schneidet mit der Schere ein oberflächliches verätztes Stückchen der Schleimhaut ab, quetscht es zwischen zwei Objektträgern breit und spektroskopiert.

Bei Säurevergiftung kann das Spektrum des sauren Ht mit seinem charakteristischen Streifen im Rot sichtbar werden, bei Laugenvergiftung ist das des alkalischen Ht meist zu schwach, aber nach Zusatz eines Reduktionsmittels zwischen die Objektträger erscheint das Hchg-Spektrum.

Es darf aber nicht unerwähnt bleiben, daß auch bei der postmortalen sauren Erweichung der Magenwandung sich unter dem Einfluß der Magensäure Ht bilden kann.

2. Bei C y a n k a l i v e r g i f t u n g kann die Schleimhaut des Magens an den verätzten gequollenen Partien und der blutige Schleim daselbst das reduzierbare Cyan Ht-Spektrum zeigen.

Schüttelt man ein Organteilchen der Magenschleimhaut oder im Magen gefundene auf Cyankali verdächtige Partikelchen mit einer Met Hb-Lösung, die man aus Normalblut und rotem Blutlaugensalz bereitet, so geht der braune Ton dieser in Rot über, das Spektrum des Meth Hb in das des Cyan (Met) Hb bzw. Cyan Ht, reduzierbar in Cyan Hchg.

3. C h l o r s a u r e s K a l i verwandelt das Oxy Hb in Met Hb und gibt daher dem Blut und den Organen eine auffallend graubraune, schokoladenartige Färbung. Auch der Urin beteiligt sich daran, da es zur Hämaturie kommt. Die Met Hb-Bildung des Blutes kann sich in dem charakteristischen Absorptionsstreifen im Rot kundgeben.

4. Am häufigsten wird es sich um den N a c h w e i s v o n K o h l e n o x y d im Blute handeln, und nicht nur um die Vergiftung als solche, sondern auch um die Frage, ob der Tod durch Einatmen von CO erfolgt ist, oder ob erst die Leiche in die CO-Atmosphäre gelangt ist. Denn nach Versuchen S t r a ß m a n n s und seiner Schüler kann zweifellos auch postmortal durch die Hautdecke der Leiche CO in den Körper diffundieren, wenn er lange genug der CO-Atmosphäre ausgesetzt ist. In der Peripherie, der Haut, den Muskeln und zuweilen auch noch den angrenzenden Organabschnitten ist dann CO in mehr oder weniger großer Menge nachzuweisen.

Besonders der Befund an der Leber ist nach M i r t o differentialdiagnostisch wichtig. Bei postmortaler CO-Diffusion ist die

Vorderfläche derselben hellrot und CO-haltig, die Mitte dunkler und CO-frei; bei vitaler CO-Erstickung dagegen die ganze Leber gleichmäßig hellrot. Indes ist dieser Unterschied nicht absolut verlässlich; S t r a ß m a n n und S c h u l z fanden sogar das Blut der Schädelhöhle, der harten und weichen Hirnhaut, des Herzbeutels, des Herzens, des Pankreas und Psoas sowie blutiger Ergüsse der Brust- und Bauchhöhle durch postmortale Diffusion in einzelnen Versuchen CO-haltig, nicht aber das des Plexus chorioideus. Immerhin wird es nicht häufig vorkommen, daß eine Leiche als solche so lange einer CO-Atmosphäre ausgesetzt ist, daß sie völlig davon durchdrungen wird.

Der CO-Gehalt des Blutes innerer Organe, besonders des Herzens und der großen Körperschlagader, wird also, wie auch die Versuche S t o l l s neuerdings gezeigt haben, — von ganz besonderen Fällen abgesehen — auf vitale CO-Erstickung hindeuten oder, um mit S t r a ß m a n n - S c h u l z zu sprechen, ein Zeichen sein, welches bei verständiger Erwägung der Verhältnisse in den meisten Fällen zu einem bestimmten Gutachten führen wird.

Betreffs der Aufbewahrung und Versendung CO-haltigen Blutes möchte ich hier noch einmal darauf hinweisen, daß sie in bis oben vollgefüllten, also luftleeren Gefäßen mit Glasstöpsel- (nicht Pergamentpapier-) Verschuß geschehen sollte. Zur Verhütung der Fäulnis Borax zuzufügen, ist nicht durchaus erforderlich, da CO-Blut der Fäulnis lange widersteht.

Am besten ist es freilich, die U n t e r s u c h u n g s o f o r t , vor B e g i n n d e r O b d u k t i o n anzustellen, und zwar in kurzen sog. Hämolyse-Röhrchen von möglichst gleichem Querschnitt. Für die chemischen Proben sind sie bis oben zu füllen, da sonst schon das Luftquantum in dem leeren Abschnitt des Röhrchens beim Schütteln eine Oxydation des CO-Blutes bewirken kann. I p s e n empfiehlt außerdem, das Röhrchen mit einem Pfropf nicht entfetteter Watte zu verschließen, auf diesen flüssiges Paraffin zu gießen und erst nach dem Erstarren desselben zu schütteln.

Die Kontrolle mit Normalblut sollte stets ausgeführt werden. Das gilt sowohl für die chemische wie für die spektroskopische Probe.

Es können viel geringere Grade CO-Gehaltes festgestellt werden, wenn man das Kontrollspektrum, die Kontrollfarbe

daneben hat und vergleichen kann. Der zweiteilige Spektralapparat ist hierzu besonders geeignet, da er die beiden Spektren übereinander gestellt zeigt.

Am richtigsten wäre, Normalblut von derselben Konzentration und annähernd von demselben Alter zu nehmen, wie die des CO-Blutes. Frisches Blut zeigt z. B. bei der Tanninprobe eine graurote Färbung, so daß die Differenz gegenüber der Farbe des CO-Blutes nur gering ist. Wenigstens im Anfang. Erst nach einigen Stunden wird der Unterschied deutlich.

Nachdem schon L i m a n versucht hatte, das Kontrollblut durch Ausschütteln des CO aus dem CO-Blut zu gewinnen, haben W a c h h o l z - S i e r a d z k i - R e e t z ein derartiges Verfahren angegeben, welches für den Fall, daß Normalblut zur Kontrolle nicht vorhanden ist, gute Dienste leistet (s. u.).

S p e k t r o s k o p i s c h e r N a c h w e i s: Eine dünne CO-Blutlösung zeigt spektroskopisch zwei Absorptionsstreifen im Gelbgrün (D—E), die im Vergleich mit den OxyHb-Streifen des gewöhnlichen Blutes etwas nach rechts verschoben, enger gestellt erscheinen und nach dem Zusatz eines Reduktionsmittels n i c h t zusammenfließen. Erst nach Vollendung der Reduktion im Kontrollblut, nach etwa 10 Minuten, ist exakt zu vergleichen.

Da das CO-Blut meist nicht vollständig mit CO gesättigt ist — der Tod tritt schon ein, wenn die Hälfte des Blutsauerstoffes durch CO verdrängt ist —, also noch OxyHb enthält, so kann infolge der Reduktion des vorhandenen OxyHb der Streifen des reduzierten Hb zwischen den beiden CO-Banden auftreten. Aus dem Stärkeverhältnis der nicht reduzierten COHb-Streifen und dem dazwischen liegenden Schatten des reduzierten Hb läßt sich ungefähr ein Schluß auf den CO-Gehalt des Blutes ziehen.

Die Grenze des spektroskopischen CO-Nachweises liegt etwa bei 15—20 % CO-Gehalt des Blutes, und zwar erscheint in diesem Falle die Hb-Bande an ihren beiden Enden, anstatt, wie gewöhnlich, sich zu verlieren, verschärft und wie abgeschnitten. Die Akzente der CO-Schatten sind also nur eben angedeutet.

Auch faules CO-Blut behält seine charakteristische spektroskopische Eigenschaft mangelnder Reduzierbarkeit lange Zeit.

C h e m i s c h e r N a c h w e i s: Die chemischen Proben sind durchweg schärfer oder wenigstens in vielen Fällen sinnfälliger als die spektroskopische. Die Grenze liegt hier etwa bei 8—15 %

CO-Gehalt des Blutes. Die besten Resultate erzielt man mit der Probe, auf die man eingearbeitet ist. Besonders die Beurteilung der Abstufungen des Farbentones lehrt nur die Erfahrung, denn die persönliche Empfindung der Farbe spielt, wie *Strassmann* und *Schulz* treffend sagen, bei den chemischen Proben eine große Rolle. Uns hat sich die *Kunkel-Schulz*sche Tanninprobe sehr gut bewährt; der Farbenunterschied ist nach 24 Stunden am deutlichsten (s. Taf. II). Am längsten halten die Farbe die *Wachholz*sche (s. Taf. II) und die Chininprobe.

Hoppe-Seyler gab 1858 die erste chemische Reaktion an:

CO-Blut + NaOH \overline{aa} gibt zinnoberrote Gerinnsel; O-Blut + NaOH \overline{aa} einen grünbraunen Schleim.

Ein ähnlicher Farbenunterschied zeigt sich auch beim Kochen, bei Fällung des Blutes mit Bleiessig, essigsaurem Ferricyankali, Kupfervitriol, wäßriger Tanninlösung, Sublimat, Pikrinsäure, Alaun sowie bei der Einwirkung oxydierender (übermangansaures Kali) und reduzierender (alkal. Pyrogallollösung, Traubenzucker, Schwefelammon) Substanzen.

Von den zahlreichen angegebenen Proben seien folgende genannt:

Wetzel: 10 Teile Blut + 15 Teile (20 proz.) Ferricyankalilösung + 2 Teile 30 proz. Essigsäure; sanft schütteln:

CO-Blut gibt intensiv rote, O-Blut schwärzlichbraune Gerinnsel.

(*Wetzel* -) *Kunkel-Schulz*: 1 Teil (20 proz.) Blutlösung + 1 Teil (3 proz.) wäßriger Tanninlösung; kräftig schütteln:

CO-Blut gibt hellkarmoisinrotes, O-Blut graubraunes Tanninalbuminat.

Katayama: 5 Tropfen Blut zu 10 ccm Wasser, nach leichtem Umschütteln + 5 Tropfen gelben Schwefelammons, nach abermaligem Umschütteln + 30 proz. Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion (Farbenumschlag!); mehrmals sanft umkippen:

CO-Blut wird schön rosarot, O-Blut schmutzig grünlich.

Horoszkiewicz-Marx: 2 Teile Blut + 4 Teile 8 proz. wäßrige Lösung von Chinin. hydrochloricum, mischen, bis zum Kochen erhitzen, abkühlen lassen, + 2—3 Tropfen frischen Schwefelammons, kräftig schütteln:

CO-Blut wird leuchtend rot, O-Blut schmutzig braungrün.

W a e h h o l z - S i e r a d z k y - R e e t z bereiten das Kontrollblut durch Ausschütteln des CO aus dem CO-Blut, nachdem sie dieses in Met Hb verwandelt haben. Das Met Hb hält das CO nicht in so fester Verbindung wie das Oxy Hb, gibt also das CO leichter ab:

4 Teile des CO-Blutes + 16 Teile Wasser + 40 Tropfen (10 proz.) Ferrieyankalilösung mischen, dann in 2 gleiche Teile teilen. Die eine Hälfte (A) verkorkt beiseite stellen, die andere (B) 10 Minuten lang in Porzellansehälchen fortwährend umgießen; dann zurück ins Reagenzglas und beide Hälften A und B versetzen mit je 5 Tropfen Schwefelammons + 10 Teilen konzentrierter wäßriger Tanninlösung; kräftig schütteln:

CO-Blut (A) wird schön rot, O-Blut (B) schmutzig grau- bis grünbraun.

Endlich sei noch erwähnt, daß D e D o m i n i e i s neuerdings — nach dem Vorgang von H é n o c q u e und C o r r a d o — die Spektroskopie der Tanninprobe im reflektierten Licht als eine scharfe Probe empfiehlt. Er versetzt 2 Teile Blut mit 10 Teilen Wasser und 10 Teilen (3 proz.) wäßriger Tanninlösung, verschließt das Reagenzglas nach dem Umsehütteln mit Watte und Paraffin und spektroskopiert.

Das rote CO-Blut zeigt nach 24 Stunden im reflektierten Licht den breiten Streifen des reduzierten Hb; das graubraune O-Blut das Spektrum des Met Hb oder des sauren Ht, also den charakteristischen Streifen im Rot.

Ich habe den Streifen im Rot jedoch öfters vermißt, ja vielfach zeigte das O-Blut überhaupt kein Spektrum; dagegen fand sich im CO-Blut stets eine breite, kräftige Hb-Bande.

Die empfindlichste q u a n t i t a t i v e P r o b e a u f C O ist die 1880 von F o d o r angegebene P a l l a d i u m c h l o r ü r - R e a k t i o n , welche auf der Reduktion des Palladiumchlorürs durch CO zu metallischem Palladium beruht.

Das CO-Blut wird in einen kleinen Kochkolben gebracht, durch dessen Stöpsel zwei Glasrohre leiten; das eine reicht auf den Boden der Flasche und dient zur Einleitung der Luft, deren eventueller CO-Gehalt durch vorgelegtes Palladiumchlorür ausgeschlossen wird. Das andere führt vom Halse des Kolbens durch essigsaures Blei (zum Aussehluß von etwa vorhandenem H₂S),

dann durch verdünnte H_2SO_4 (zum Ausschalten vorhandenen Ammoniaks) zu ein bis zwei U-förmigen Röhren mit je 4 Kugeln (sog. Geißlerschen Röhren), welche Palladiumchlorür enthalten. Der Kolben wird auf ein Wasserbad gesetzt und das Blut $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 90 — 95°C erwärmt gehalten. Dabei wird öfter aufgeschüttelt und ein möglichst langsamer Luftstrom durch den Apparat geleitet. Das Blut verfärbt sich, spaltet das CO ab, und dieses bewirkt an der Oberfläche der Palladiumchlorürlösung einen schwarzen Palladiumniederschlag (Häutchen).



Es gelingt mit dieser Methode, noch $0,005\%$ CO zu erkennen, und sie ist daher das beste quantitative Reagens. Aber sie ist nicht ausschließlich. Sumpfgas, Äthylen, Wasserstoff, Leuchtgas, Schwefelammon und Ozon sowie Schwefelwasserstoff und Ammoniak bewirken ebenfalls wie CO Reduktion des Palladiumchlorürs.

Sie ist deshalb, wozu der komplizierte Apparat und die schwierige Operation kommt, nur mit Vorsicht zu benutzen und nur in der Hand des Geübten brauchbar, wenn sie verlässliche Resultate ergeben soll.

Der Nachweis der Blutzellen.

Der mikroskopische Nachweis der Formelemente des Blutes — und als solche kommen nur die roten Blutkörperchen in Betracht ¹⁾ — hat früher ein höheres Interesse beansprucht als heute. Gab er doch die einzige Möglichkeit, mit einer relativen Sicherheit durch Messung und Vergleichung der Größe und Form der roten Blutkörperchen einen Schluß auf die Blutart zu machen.

Da aber die Darstellung der Erythrozyten in angetrocknetem Blute auf Schwierigkeiten stieß, auf um so größere, je älter und fester die Blutschollen geworden waren, so bedurfte es geeigneter Lösungsmittel, die Blutschollen zu erweichen, die geschrumpften Blutkörperchen wieder aufzuquellen, ohne sie allzu erheblich zu schädigen.

Solcher Lösungsmittel oder, besser gesagt, Quellmittel sind im Laufe der Jahre eine ganze Reihe angegeben worden, und auch heute noch wird das eine oder andere mit mehr oder weniger Berechtigung angepriesen.

Orfila erwähnt schon 1827 seine Versuche, im angetrockneten Blut die Erythrozyten mikroskopisch darzustellen, und 1857 verwandte Robin dazu eine besondere Flüssigkeit, deren Zusammensetzung er sogar geheimhalten zu müssen glaubte.

Es braucht kaum besonders betont zu werden, daß Wasser und besonders destilliertes Wasser ganz ungeeignet als Quellmittel ist, da es den Blutfarbstoff aus den Blutkörperchen rapide auszieht, so daß nach kürzester Zeit nur mehr die zusammengefallenen Stromata im Gesichtsfeld verbleiben.

¹⁾ Der mikroskopische Nachweis von Leukozyten kann wegen ihrer Ähnlichkeit mit anderweitigen Zellen für forensische Zwecke nicht verwertet werden.

Ein gutes Lösungsmittel soll vielmehr die folgenden drei Bedingungen erfüllen (R i c h t e r):

1. Es darf den Blutfarbstoff nicht lösen, weil sonst die charakteristische Färbung der Blutkörperchen verloren geht;

2. Es muß die geschrumpften Blutkörperchen zur Quellung bringen und

3. sie räumlich bzw. optisch isolieren.

Bei frischem flüssigen oder feuchtem noch nicht völlig eingetrockneten Blut genügt hierzu schon p h y s i o l o g i s c h e 0,85proz. K o c h s a l z l ö s u n g. Man hat nur darauf zu achten, daß man die Blutmenge nicht zu groß nimmt. Ein mit einer Präpariernadel entnommenes Blutpartikelchen wird in einem großen Tropfen Na Cl-Lösung aufgeschwemmt, verteilt und bei 80- bis 400-facher Vergrößerung betrachtet.

Ist die Blutspur älter, das Blut fest an- und eingetrocknet, so greift man besser gleich zu schärferen Mitteln, zumal wenn man über das Alter der Blutspur nicht orientiert ist.

R i c h t e r prüfte 1900 in einer sehr fleißigen kritischen Arbeit schon etwa 40 derselben auf ihren Wert. Nur die gebräuchlicheren mögen hier folgen:

Eines der ältesten Quellmittel ist die 30—33 proz. K a l i - l a u g e, die schon D o n d e r s 1847 und nach ihm K ö l l i c k e r 1854, V i r c h o w 1857 und B i z z o z e r o 1882 empfahlen.

R o u s s i n schlug 1865 eine Mischung aus einem Teil konzentrierter Schwefelsäure, 3 Teilen Glyzerin und Zusatz destillierten Wassers bis zum spezifischen Gewicht 1028 vor.

P a c i n i 1872: eine Mischung aus 4 Teilen Kochsalz, 26 Teilen Glyzerin, 2 Teilen Sublimat und 226 Teilen Wasser, die von

v. H o f m a n n 1873 in der Modifikation: 2 Teile Kochsalz + 1 Teil Sublimat + 100 Teile Glyzerin + 300 Teile Wasser empfohlen wurde.

D r a g e n d o r f f 1881 nahm: 5 Teile Natriumsulfit + 1 Teil Kochsalz + 94 Teile Wasser.

V i b e r t 1882: 3 Teile Kochsalz + $\frac{1}{2}$ Teil Sublimat + 100 Teile Wasser.

L e s s e r 1883: 15 proz. Weinsteinsäure.

H a y e m 1889: 5 Teile Natriumsulfit + 1 Teil Kochsalz + $\frac{1}{2}$ Teil Sublimat + 200 Teile Wasser.

C o r a i n i 1897 und R e z z o n i c o 1898: 10 proz. Oxalsäure.

P u p p e 1899: 15—30 proz. Kalilauge und 40 proz. Formalin \overline{aa} .

R i c h t e r 1900: Pepsin-Glyzerin (G r ü b l e r).

D ä u b l e r fügte zu 3 Teilen Pepsin-Glyzerin 1 Teil Formaldehyd.

G r i g o r j e w 1902: 12 Teile Kalilauge + 40 Teile Kal. tartrat. + 100 Teile Wasser.

M a r x 1903: konzentrierte Kalilauge + 1 prom. Chin. hydrochloric. mit oder ohne Eosin.

J e s e r i e h 1905: 3 Teile Glyzerin + 1 Teil konzentrierte Schwefelsäure + destilliertes Wasser bis zum spezifischen Gewicht 1028 der Mischung.

Auch die sogenannte K a y, s e r l i n g s e h e Lösung: 10 Teile Lic. Kali acet. + 20 Teile Glyzerin + 100 Teile Wasser ist brauchbar.

Welches von den genannten Lösungs- bzw. Quellungs-
mitteln man wählt und bevorzugt, ist Sache des Geschmacks und
der Überzeugung. Nach den Untersuchungen R i c h t e r s
lösen sie alle mehr oder weniger die Blutkörperchen schließlich
auf, und der Wert einiger liegt nur im wesentlichen darin, daß
sie dies langsamer tun, so daß zu der mikroskopischen Betrachtung
genügend Zeit bleibt.

Dies sind die Lösungen von P a c i n i bzw. H o f m a n n -
P a c i n i, von R o u s s i n, von R i c h t e r und die Kalilauge
mit oder ohne Zusätze.

Uns hat sich die 33 proz. Kalilauge, die ja auch sonst zum
ständigen Rüstzeug des Untersuchungstisches gehört, in allen
Fällen als brauchbar erwiesen, und ich glaube sagen zu können,
daß man mit ihr völlig auskommt. Sie erfüllt auch in voll-
kommenster Weise jene unerläßlichen drei Bedingungen. Um
einer zu starken Quellung durch die Lauge entgegenzuwirken,
kann man sie immerhin mit Formalin \overline{aa} versetzen.

Das Pepsin-Glyzerin R i c h t e r s isoliert die Blutkörperchen
optisch dadurch, daß es das feinmaschige Fibrinnetz, in welchem
diese eingeschlossen sind, zur Auflösung bringt.

Das Fibrin wird schon bei Zimmertemperatur peptonisiert,
während das Eiweiß der Blutkörperchen dabei noch nicht ange-

griffen wird. Auch dieses Mittel ist besonders für sehr alte Blutspuren geeignet. D ä u b l e r hat ihm aus demselben Grund wie oben P u p p e der KOH Formaldehyd zugefügt.

Ein relativ frisches Blutpartikelchen, besonders wenn die Blutkörperchen in dünner Schicht liegen, wird mit diesen Mitteln in verhältnismäßig kurzer Zeit zu zerteilen sein, und man wird sogar hier und da, wo ein oder ein paar Blutkörperchen isoliert liegen, ihre Form und Gestalt erkennen können: das Oval der Vögel mit seinem Kern; das runde Scheibchen der Säuger mit seiner Delle, wenn man eine Niveauverschiebung durch Drehung der Mikrometerschraube herbeiführt, und das Zentrum bald hell, bald dunkel erscheint, oder die Biskuitform bei Kantenstellung des Blutkörperchens.

Schwieriger wird die Diagnose bei älteren fest zusammengebackenen Blutschollen, die nur langsam erweichen. Da halte man sich an die Randpartien der Scholle. Hier, in der dünneren Lage, wirkt das Quellmittel am stärksten; hier tritt am schnellsten die optische Differenzierung ein; einzelne Blutkörperchen oder kleinere Verbände lockern sich und springen ab und zeigen die feinen Konturen der enggelagerten, gequollenen Erythrozyten.

Dies Bild ist so charakteristisch, daß der Erfahrene daraus allein schon die Diagnose Blut stellen könnte.

Je glatter und undurchlässiger die Unterlage (Metall, Stein, Holz) ist, auf der das Blut angetrocknet ist, desto günstiger ist dies für den mikroskopischen Nachweis, desto geringer ist die Formveränderung der Blutkörperchen, desto leichter läßt sich ein kleines dünnes Schüppchen entnehmen und auf dem Objektträger durch die Mazeration zerteilen.

Rauhe und zerklüftete Substrate dagegen (Leinen, Wolle) geben vielfach nur ein undeutliches Bild; die Konturen der in die Maschen des Gewebes eingedrungenen Blutkörperchen sind stark verzerrt. Man sieht Scheibchen von der Größe weißer Blutkörperchen bis herab zu kleinsten von Plättchengröße, von runder, ovaler, buchtiger, zackiger, dreieckiger, polygonaler Form, kurz kein einheitliches Bild.

Ist da schon die Entscheidung, ob es sich um Blutkörperchen handelt, nicht immer leicht, besonders wenn das Substrat unreinigt ist, andere zellige Bestandteile ähnlicher Form enthält

oder Farbstoffe, die von dem Quellmittel ausgelaugt wurden, ganz unmöglich ist es, aus der Größe und Form hier auf die Gattung zu schließen.

Eine Messung der Größe — selbst isolierter — Blutkörperchen aus solchen mazerierten Blutschollen mit dem O k u l a r - oder O k u l a r s c h r a u b e n m i k r o m e t e r ist daher ganz illusorisch und gehört heute der Geschichte an.

Das O k u l a r m i k r o m e t e r oder das O b j e k t m i k r o m e t e r sind Glasplättchen mit eingätzter Teilung, die auf die Sehfeldblende des Okulars oder des Objektives — die Teilung nach unten gerichtet — aufgelegt werden. Die 5 mm lange Skala ist bei ersterem in Zehntel-Millimeter geteilt, die 1 mm-Skala in Hundertstel-Millimeter bei letzterem.

Exaktere Messungen gestattet das O k u l a r - S c h r a u b e n - m i k r o m e t e r. Dieses besteht aus einem Okular von ca. 20 mm Brennweite — also ca. 12 facher Lupenvergrößerung — und einer sehr sorgfältig gearbeiteten Mikrometervorrichtung mit geteilter Trommel. Auf dem durch die Mikrometerschraube bewegten Glasplättchen befindet sich ein Strichkreuz und ein Doppelstrich. Ein Intervall der Trommelteilung entspricht einer Verschiebung des Signals um 0,01 mm. Die ganzen Umdrehungen der Trommel werden an einer im Sehfelde sichtbaren bezifferten Skala gezählt.

Auch der Vorschlag M o d i c a s, die Blutkörperchen auf einen Milchglasschirm zu projizieren und hier ihren Umkreis direkt zu messen, bringt wenig Vorteil.

Wir wissen ja nicht, ob die Quellung, selbst wenn wir ein ziemlich unversehrtes annähernd normales Blutkörperchen nehmen, die durch die E i n t r o c k n u n g bewirkte Schrumpfung bereits ausgeglichen oder das Blutkörperchen schon über den normalen Tonus hinaus ausgedehnt hat.

Dazu kommt, daß die Größenunterschiede der Erythrozyten im Menschen- und im Tierblut so gering und so wenig konstant sind, daß die Mikrometrie auch für relativ frisches Blut keine forensisch verwertbaren Resultate gibt.

Ebensowenig kann man aus der Größe der Blutkörperchen auf die Größe der Tiergattung schließen.

Unter den Säugern hat der Mensch die größten — abgesehen vom Elefanten, dessen Blutkörperchen nach G u l l i v e r 9,2 μ mißt. — Aber die menschlichen schwanken in demselben Blutstropfen zwischen 6,5 und 9,2 μ , im Mittel 7,7 μ . Däubler

fand als Durchschnittsmaß $8,12 \mu$ ($1 \mu =$ ein tausendstel Millimeter $= 0,001 \text{ mm}$).

Nur wenig differieren mit diesen in der Größe die Blutkörperchen des Hundes 7,4 (8,0!), der Maus 7,2, des Pferdes 7,2, des Kaninchens 7,15 (7,68), des Meerschweinchens 7,0 (7,75), des Schweines 7,0; und weiter abwärts die vom Rind 6,8, von der Katze 6,4, vom Schaf und von der Ziege 4,9—3,9.

Man sieht, daß so geringe Größenunterschiede unter den Blutkörperchen von Haustieren, deren Blut sehr oft differentialdiagnostisch in Betracht kommt, praktisch nicht verwertbar sein können, wenn nicht die schwerwiegendsten Fehlschlüsse gemacht werden sollen.

Aber eine sichere Auskunft kann die Mikroskopie des Blutes geben: ob ein Kern vorhanden ist.

Die Wirbeltiere haben bekanntlich teils kleine, kreisrunde, bikonkave, kernlose Erythrozyten (die Säuger, ausgenommen Lama, Kamel, Dromedar und verwandte Gattungen, die elliptische, bikonvexe Blutkörperchen haben), teils große, ovale bis elliptische, bikonvexe, kernhaltige Erythrozyten (Vögel, Reptilien, Amphibien, Fische).

Um den Kern der elliptischen Blutkörperchen deutlicher hervortreten zu lassen, dient uns 1—2proz. Essigsäure, die das Plasma der Blutzelle optisch unwirksam macht und dadurch den Kern hervorhebt. (Siehe Taf. I, Fig. 1.)

Setzen wir 5 proz. Essigsäure zu, so löst sich das Plasma nach und nach zu einem körnigen Detritus auf, während der widerstandsfähigere Kern unbeeinflusst bleibt und als elliptisches Körperchen mit granulierter Struktur im Gesichtsfeld zurückbleibt.

Wir haben also in der 5 proz. Essigsäure ein vortreffliches diagnostisches Mittel, die Säugetierblutkörperchen von denen der anderen Tierarten abzugrenzen. Jene werden völlig aufgelöst, bei diesen bleibt der Kern zurück.

In manchen Fällen klärt diese Untersuchung den Fall schon genügend auf, so daß sich eine biologische Prüfung der Blutart erübrigt.

Ein Musketier war des Gänsediebstahls beschuldigt. An seiner Säbeltrodde! und an der linken Hosentasche fanden sich frische Blutflecken, die, wie er angab, von einer Fingerwunde herrühren sollten. In

allen Flecken fanden sich Blutkörperchen, die sich fast restlos mit Essigsäure lösten, nirgendwo kernhaltige. Die biologische Untersuchung bestätigte die Anwesenheit von Menschenblut. (11. 10. 09.)

Es empfiehlt sich übrigens, diesen Auflösungsprozeß fortlaufend im Mikroskop zu verfolgen; denn vielfach sind im forensischen Präparat außer den Blutkörperchen noch zahlreiche andere Zellen, Sporen, Fetttröpfchen und sonstige Verunreinigungen enthalten, die ein Herausfinden und Erkennen der Kerne erschweren.

Die Essigsäure beeinflußt nämlich Schimmelpilzsporen und Fetttröpfchen ebenfalls nicht. Letztere erkennt man an dem dunkel konturierten Rand und der charakteristischen Lichtbrechung. Erstere färben sich mit L u g o l s c h e r Jodlösung intensiver braun als die Kerne.

Etwas eingehender müssen wir uns mit einer neueren Methode der Blutmikroskopie beschäftigen, wenn auch die Erfahrungen mit dieser noch keineswegs abgeschlossen sind.

Im Jahre 1907 hat F l o r e n c e eine Methode angegeben, die B l u t s p u r a m O b j e k t d i r e k t i m r e f l e k t i e r t e n L i c h t z u m i k r o s k o p i e r e n, und es schien, als ob der forensischen Mikroskopie hiermit neue Bahnen eröffnet worden seien, die praktischen Erfolg versprechen. Das Bestreben, mit möglichster Schonung des Objektes und mit möglichst geringen Mengen des Materials sichere Resultate zu erzielen, schien hier erreicht.

Mittels eines Apparates, der an jedem Mikroskop anzubringen ist, wird das Objekt im auffallenden, reflektierten Licht auf Blutspuren abgesucht.

Allerdings ist dies nur bei bestimmten Objekten möglich, solchen, die das Licht reflektieren (Metalle, Steine), und dadurch ist die praktische Brauchbarkeit der Methode naturgemäß nicht unerheblich eingeschränkt.

Man benutzt dazu den V e r t i k a l - I l l u m i n a t o r von Z e i ß - J e n a oder den O p a k - I l l u m i n a t o r von L e i t z - W e t z l a r, Apparate, wie sie in der Technik und Mineralogie schon längere Zeit benutzt worden sind, um die Oberflächenstruktur von Stein- und Metallschliffen, Kristallformen und Ähnlichem zu untersuchen.

Der erstere besteht im wesentlichen aus einem kleinen Prisma, das seitlich einfallende Strahlen total reflektiert und so eingestellt werden kann, daß die Lichtstrahlen auf das unter dem Objektiv befindliche Objekt fallen.

Die von der Lichtquelle kommenden durch eine Sammellinse mit Irisblende vereinigten Lichtstrahlen gelangen durch ein seitliches Fenster in die Objektivfassung und auf das die halbe Öffnung des Objektives verdeckende Reflexionsprisma *p*. Von dessen Hypotenusenfläche werden sie total reflektiert und fallen durch das Objektiv auf das Objekt. Die Stellung des Prismas und damit die gleichmäßige Belichtung des Objektes läßt sich durch Drehen des Knopfes *K* regulieren (Fig. 17 a u. b).

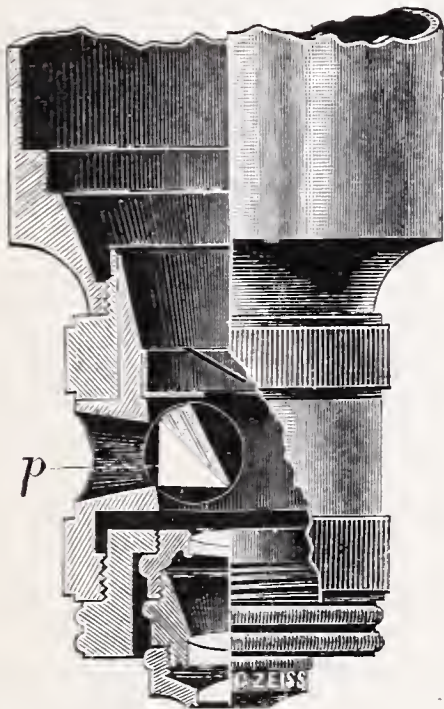


Fig. 17 a.

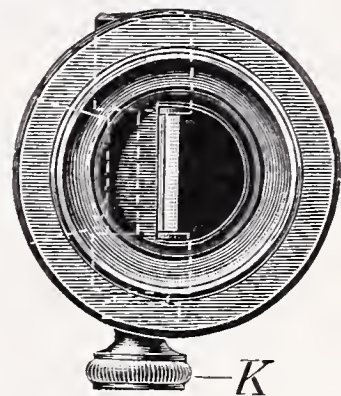


Fig. 17 b.

Vertikal-Illuminator der Firma Zeiss: a von der Seite, b von oben gesehen. *p* Reflexionsprisma. *K* Knopf zum Drehen des Prismas.

Der Opak-Illuminator besteht aus einer kurzen Metallhülse (Fig. 18 a) die an Stelle des Objektivs am Mikroskop angeschraubt werden kann und mit eigenem Objektiv versehen ist. Er birgt in sich eine planparallele geschliffene Glasplatte, die um ihre horizontale Achse drehbar ist, und mittels welcher nach Art des Helmholtz'schen Augenspiegels es möglich ist, Licht von der Lichtquelle unter einem Winkel von 45° direkt auf das Objekt zu werfen. Vorher wird das Licht in einer Linse, die mit Irisblende versehen ist, gesammelt. Die auf das Objekt auffallenden Strahlen werden durch ein System von Linsen im Objektiv durch den Tubus des Mikroskops zum Okular und zum Auge des Untersuchers zu-

rückgeworfen. An Stelle des Objektivs am Illuminator ist auch jedes andere zu benutzen. Es gibt aber dabei leicht verzerrte Bilder, wenn man unebene Flächen untersucht, da die gewöhnlichen Objektive nur auf die ebenen Deckgläschen berechnet sind. Besser ist daher das für *unebene* Flächen konstruierte besondere Objektiv des Apparates zu benutzen.

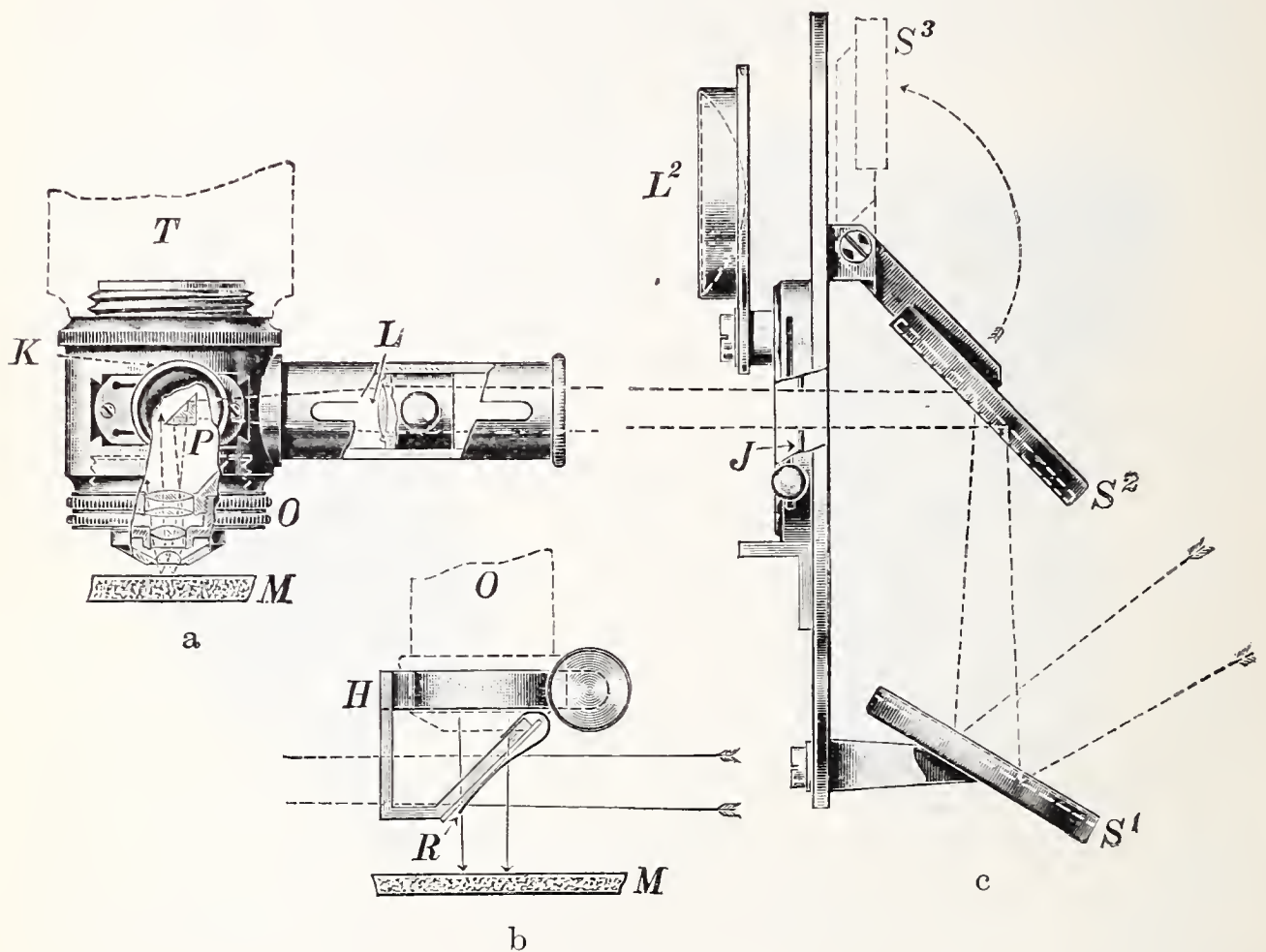


Fig. 18.

Opak-Illuminator der Firma Leitz.

Der Opak-Illuminator der Firma *Leitz* hat neuerdings eine Verbesserung erfahren, die in dem Plättchenhalter *H* in Fig. 18b und dem Beleuchtungsstativ in Fig. c besteht. Ersterer läßt sich mittelst Klemmrings an der Fassung *O* des Objektivs in Fig. a befestigen und enthält ein dünnes Glasplättchen *R*, welches im Winkel von 45° zur optischen Achse geneigt ist. Der Plättchenhalter kommt nur für die schwachen Objektive 1 und 2 in Anwendung; bei dem gewöhnlich benutzten Objektiv 3 ist er entbehrlich. Das schräggestehende Glasplättchen gibt dem Gesichtsfeld eine gleichmäßigere Belichtung.

Das Beleuchtungsstativ Fig. c ermöglicht auch die Verwendung von Tageslicht und verbessert bei den meisten künstlichen Lichtquellen die Belichtung des Objektes. Es besteht aus zwei Spiegeln S^1 und S^2 , welche das Licht aufnehmen und durch den Irisspalt J und die vor die Irisblende geschaltete Linse L^2 in den Tubus der Linse L und das Prisma P werfen. Die Entfernung der Linse L^2 von dem Prisma P soll etwa 15 cm betragen, die Entfernung der Lichtquelle von dem Beleuchtungsstativ etwa 35—40 cm. Ein klares und gutes Bild wird nur dann erzielt, wenn durch Heben oder Senken der Scheibe, welche die Irisblende trägt, der Lichtstreifen in die Mitte des Gesichtsfeldes geworfen und die Lichtzufuhr durch die Irisblende reguliert wird. Um die sehr störenden seitlichen Lichtstrahlen auszuschalten, ist der Irisspalt möglichst eng zu stellen.

Ist die Beleuchtung geregelt, so erfolgt die Scharfeinstellung des Objektes M mittels der Makro- und Mikrometerschraube des Mikroskopes. Beim gewöhnlichen Revolvermikroskop ist der Tubusauszug auf 147, bei denjenigen ohne Revolver auf 165 einzustellen. Nach der Scharfeinstellung ist meist die gleichmäßige Belichtung des Objektes M durch Drehen des Prismas P an dem Knopfe K nochmals zu regulieren.

Beide Apparate eignen sich vorzüglich für photographische Aufnahmen des Objektes. Je nach der Färbung desselben empfiehlt es sich, farbige Glasblenden vor die Lichtquelle zu bringen.

Je dunkler das Objekt ist, desto konzentriertere Beleuchtung ist notwendig. Als solche dient ein Auerbrenner, eine sogenannte Mikroskopierlampe oder eine kleine Bogenlampe.

Das Einstellen erfordert einige Übung; man suche die dünnsten Stellen der Blutspur auf und auch hier wieder die Randpartien, wo die Blutkörperchen vereinzelt zu erwarten sind, sonst wird man sich vergebens bemühen, das Bild zu entwirren. Hier aber gelingt es oft, die zart konturierten, rötlich schimmernden Blutscheibchen als solche zu erkennen, wenn sie einzeln liegen; besonders der Kern der elliptischen Blutkörperchen springt deutlich in die Augen. (Fig. 19.)

Je glatter die Oberfläche des Objektes und je dünner die Blutlage ist, desto schöner und eindeutiger ist das Bild. Wo viele Scharten und Unebenheiten vorhanden sind, in deren Buchten die Blutkörperchen als kompakte Masse liegen, da ist

mit dieser Methode nichts zu erreichen. Wie bei der Mikroskopie überhaupt, stört auch hier der Eisenrost die Erkennung der Blutflecken zuweilen erheblich. Diese gelben bis rötlichen Rostschollen, die sich lebhaft von der dunklen Unterlage des Objektes abheben, können geradezu Bilder vortäuschen, die dicht gelagerten Blutkrusten ähnlich sind. (Siehe Tafel I, Fig. 5.)

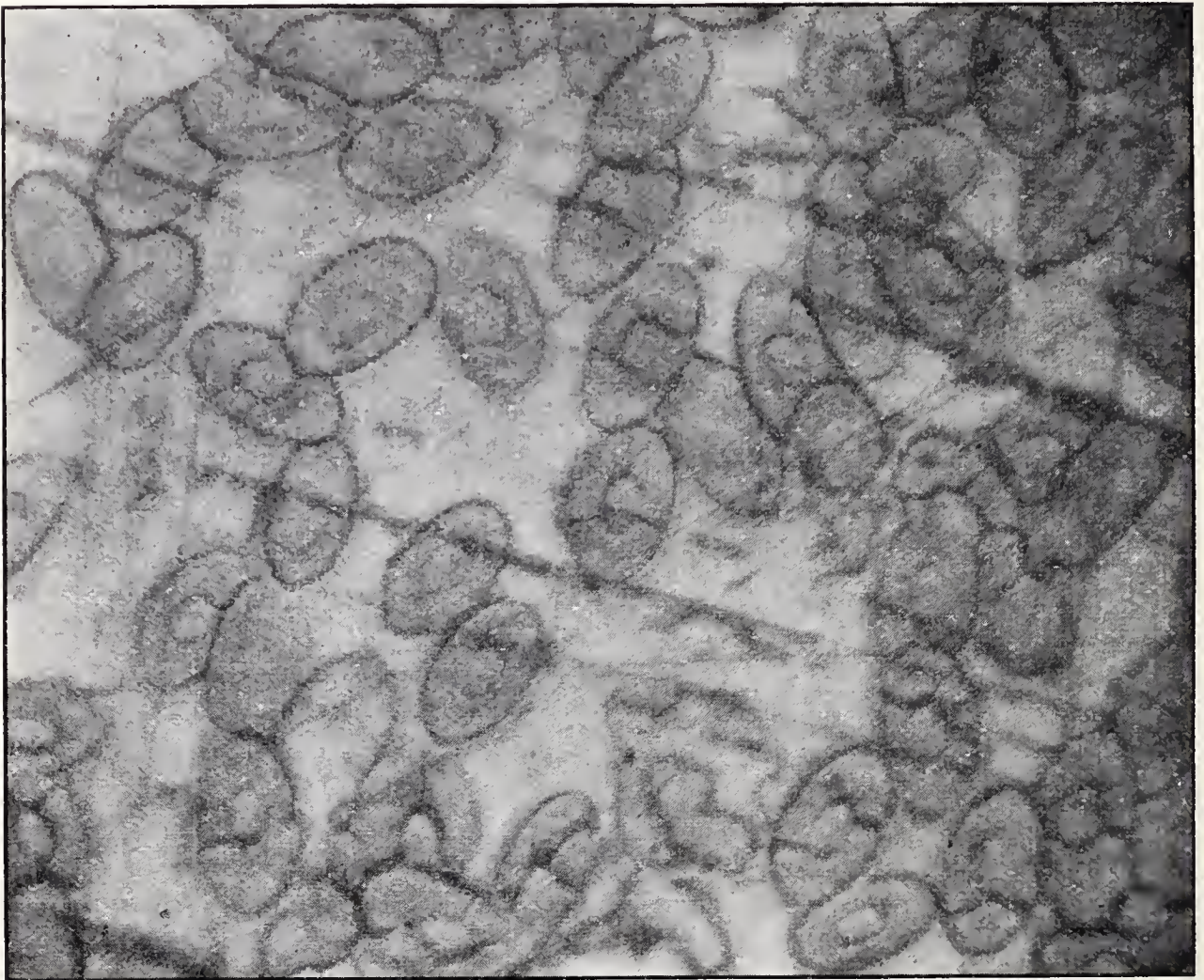


Fig. 19.

Mikrophotogramm im reflektierten Licht nach Florence. Vom Rande eines Vogelblutflecks auf einer Messerklinge. Zeiss Apochromat 3 mm, Projektionsokular 4, ein Meter Auszug. 1300fache Vergrößerung der kernhaltigen Vogelblutkörperchen.

Die Vorteile dieser Methode der Mikroskopie liegen auf der Hand. Sie sind nach F r a e n c k e l, der sie einer eingehenden Nachprüfung unterzogen hat, folgende: Die Blutspur wird nicht verändert, und der Materialverlust fehlt, so daß Nachprüfung jederzeit möglich ist. Sie kann auch dem Laien demonstriert werden.

Daß sich auch im reflektierten Licht an dem Objekt ein Spektrum darstellen und somit der Blutnachweis sich noch einwandfreier gestalten läßt, ist zweifellos. Ein Oxy Hb-Spektrum ist jedoch nur unter ganz besonders günstigen Verhältnissen an einer frischen Blutspur zu erhalten. Die Behandlung der Spur zur Darstellung des Hchg-Spektrums zerstört aber natürlich die Spur, und damit würde gerade der Vorteil der Methode, der in der Schonung der Blutspur besteht, entfallen.

Diese Art der S p e k t r o s k o p i e empfiehlt sich daher um so weniger, als die Mikrospektroskopie, wie wir sie sonst handhaben, mit einem Stäubchen auskommt, einer viel geringeren Menge des Materials zur Darstellung des Spektrums bedarf, als es hier der Fall sein würde. Vertikal- und Opak-Illuminator mögen also der M i k r o s k o p i e vorbehalten bleiben — und der M i k r o p h o t o g r a p h i e. Denn darin besteht meines Erachtens der größte Nutzen der Methode, daß sich die Blutspur, auch die kleinste, mikrophotographisch von dem Objekt aufnehmen und auf diese Weise, bevor sie durch die weitere Untersuchung entfernt oder zerstört wird, im Photogramm asservieren läßt. Der biologische Blutnachweis läßt sich ja ohnehin nicht ohne Materialentnahme und Materialverlust führen, eine Zerstörung der Spur ist also unvermeidlich.

Die M i k r o p h o t o g r a p h i e gelingt wieder um so besser, je glatter die Oberfläche des Objektes und je dünner die Lage der Blutschicht ist; Unebenheiten und kompakte Auflagerungen geben undeutliche, verschwommene Bilder.

Im ganzen geht also, so interessant sie wissenschaftlich ist, der praktisch forensische Wert der Methode nicht über den einer orientierenden Vorprobe hinaus, und in wichtigen Fällen wird der mikrospektroskopische Blutnachweis als der sicherere unerlässlich und auch als der einfachere vorzuziehen sein.

Die M i k r o s k o p i e der B l u t s p u r können alle die wiederholt genannten atmosphärischen und chemischen Einflüsse behindern, die die Blutkörperchen entfernen oder zerstören. Auch das Licht hat eine stark hämolysierende Wirkung. Wenn also ein Blutfleck lange unter Belichtung oder Besonnung gestanden hat, sind mikroskopisch keine Blutkörperchen mehr zu isolieren.

Differentialdiagnostisch kommen in erster Linie Rostpartikelchen in Betracht. Die den Klingen aufliegenden Eisenrostplättchen zeigen vielfach Dellen, und sie imponieren daher dem weniger Geübten leicht als Blutsehollen; sie zeigen auch Risse und Sprünge wie diese und in dünner Lage eine hellgelbe, in dickerer eine tiefrote Farbe. Sie geben natürlich kein Spektrum, vielmehr die Eisenreaktion, d. h. sie werden, mit Schwefelammon versetzt, grünlichschwarz.

Nur die älteren Rostschollen, die dem Ht ähnliche tiefdunkelbraunrote Farbe haben, widerstehen dem Einfluß des Schwefelammons länger in ihrem Zentrum. Man darf sich also dadurch nicht täuschen lassen.

Bräunlich gefärbte Holz- und Blatteilehen von Pflanzen gleichen ebenfalls zuweilen dem Aussehen von Blutpartikelchen. Sie werden auf Zusatz von Schwefelammon grün bis grünschwarz.

Fast noch wichtiger als die Mikroskopie der Blutspur selbst, die heute durch exaktere Methoden des Blutnaehweises ersetzt ist, ist die Mikroskopie der Beimengungen zur Blutspur, die unter Umständen wichtige Anhaltspunkte für die weitere Untersuchung des Falles geben können.

Dies gilt vor allem für Organ- und Zellgewebspartikelchen, die mit der Blutspur angetrocknet sind, und die auf die Herkunft der Blutspur, auf das Individuum und den Körperteil Schlüsse gestatten. Das retikulierte Neurogliagewebe kennzeichnet Hirnteilehen, Flimmer-, Zylinder-, Pflasterepithel die verschiedenen Schleimhäute, Fettgewebe das Unterhautzellgewebe, Muskelfasern, Hautgewebe lassen sich als solche erkennen; Fetzen der Uterusschleimhaut sprechen für Menstruationsblut, die charakteristischen Chorionzotten und großen glatten Deciduazellen mit großem Kern für Abortblutung, Dezidua fetzen mit zahlreichen Schleim- und Eiterzellen, Fetttröpfchen und Cholestearinkristallen für Lochialblutung.

Von größter Bedeutung ist der Fund von Haaren (Menschen- oder Tierhaaren), von Spermatozoen, von Vogelfedern und deren Rudimenten, von Stroh-, Holz-

und Gräsertheilchen, von Kleiderstoffpartikeln u. dgl. m.

Hier tritt die Mikroskopie voll und ganz in ihre Rechte. Zumeist wird es genügen, das verdächtige Partikelchen selbst oder mit dem angetrockneten Blut vorsichtig zu entnehmen, mit physiologischer Kochsalzlösung auf dem Objektträger einige Zeit zu mazerieren und direkt mikroskopisch zu enträtseln, eventuell unter Zuhilfenahme der aus der mikroskopischen Technik bekannten Zusatzflüssigkeiten (Essigsäure, Kalilauge, Lugol usw.).

Von Stoffen läßt sich die Blutspur schwer entfernen, ohne sie zu zerstören. Man kann dann — nach dem Vorschlag M o s e r s — das blutbefleckte Zeugstückchen $\frac{1}{2}$ —2 Stunden in Äther-Alkohol aa legen; dann läßt sich die Blutschicht als Ganzes leicht abheben. Sie kommt noch kurze Zeit in Glyzerin oder K a y s e r l i n g s c h e Lösung (Liq. Kal. acet. 10,0, Glyc. 20,0, Aq. dest. 100,0) und kann mit wässeriger Eosinlösung auf dem Objektträger gefärbt werden. Die Gewebsstruktur und deren Kerne sind gut erhalten. Fettzellen und Pilzsporen nehmen das Eosin nicht an.

Endlich kann man auch, wie S c h m o r l und K o c k e l empfehlen, die Blutflecken, die derartige auffällige zellige Bestandteile enthalten, wenn sie auf schneidbarem Stoff sich befinden, nach den Grundsätzen der histologischen Technik in Zelloidin oder Paraffin einbetten. Nach K o c k e l hat sich dabei folgendes Verfahren bewährt:

Zelloidineinbettung: Kleine Stückchen der blutbefleckten Textilgewebe werden direkt für einige Minuten in Äther-Alkohol gebracht, dann einige Stunden in sehr dünnflüssiges und hierauf 1—2 Tage in dickflüssiges Zelloidin; letzteres härtet in einem Schälchen, welches man in ein wenig Chloroform enthaltendes Glasgefäß stellt, in 24 Stunden bis zur passenden Schnittkonsistenz. Die Mikrotomschnitte kommen in 70 proz. Alkohol, werden mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt, in Alkohol entwässert, in Karbolxylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Paraffineinbettung: Für die mikroskopische Feststellung von Organgewebsteilchen, die sich in dem Blutcoagulum befinden, empfiehlt K o c k e l Aufquellung derselben in isotonischer Kochsalzlösung, Fixierung in 10 proz. Formalinlösung,

$\frac{1}{2}$ —1 Stunde, und Einbettung in Paraffin, welches feinere Schnitte herzustellen gestattet, die sich für die mikrophotographische Reproduktion besser eignen als Zelloidinschnitte.

Diese von K o c k e l ausgearbeitete und mit ausgezeichneten Photogrammen belegte Methode gibt, wie wir uns überzeugt haben, gute Resultate; es läßt sich die Struktur des Organgewebes, Haut, Fettgewebe, Hirnsubstanz, Muskulatur ungleich besser und sicherer erkennen als an Quetsch- oder Zupfpräparaten.

Der Nachweis der Blutart.

Ehe wir auf die heute gebräuchlichen biologischen Untersuchungsmethoden, die Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion, eingehen, seien kurz die Methoden erwähnt, die vor der Entdeckung jener zur Differenzierung der Blutarten vorgeschlagen wurden.

1. Als B a r r u e l 1829 den Blutfarbstoff aus Ochsenblut mittels Schwefelsäure isolieren wollte, wurde er durch einen eigentümlichen „Kuhstallgeruch“ frappiert. Als er einige Zeit später menschliches Blut auf Morphingehalt untersuchen wollte und es mit Schwefelsäure versetzte, „drang ein so starker Geruch nach M ä n n e r s c h w e i ß aus dem Kolben hervor, daß B. das Laboratorium auf wenige Minuten verlassen mußte“. Diese Beobachtungen brachten ihn auf den Gedanken, die Blutarten durch den Geruch zu unterscheiden. Er fand aber schon unter seinen Zeitgenossen nicht viele Anhänger dieser Methode.

2. K ö l l i c k e r fand als erster, daß die H b - K r i s t a l l e der Tierarten verschiedene Formen zeigen. Nachdem B ö j a n o w s k i und M i s u r a c a auf den Wert dieser Entdeckung für die forensische Praxis hingewiesen hatten, suchte man dieser Frage näher zu treten. D v o r n i t s c h e n k o und M o s e r studierten und beschrieben verschiedene Hb-Kristallformen, indem sie Blut- oder Blutlösungen langsam eintrocknen oder verdampfen ließen, und letzterer stellte auch die Grenzen ihrer Darstellbarkeit fest.

Nach ihm kristallisiert Kälberblut überhaupt nicht; schwer oder gar nicht Hammelblut; Rinder- und Kaninchenblut nur in den ersten zwei Tagen; die übrigen Blutarten dagegen noch nach 14 Tagen. Menschen- und auch Hundeblood soll vorzugsweise in rechtwinkligen Prismen oder in sehr großen rhombischen Tafeln mit scharfen Kanten und Enden (Schwalbenschwänzen) kristallisieren; daneben auch in stufen- und treppenförmigen Gebilden, die als Halbkristalle anzusehen seien; Rinderblut in Rhomboedern, Pferdeblut in Würfeln, Kaninchenblut in Tetraedern, die anderen Tierblutarten mehr in nadelförmigen Büscheln.

C o p e m a n erhielt demgegenüber nur von Menschen- und Affenblut Hb-Kristalle, M i c h e l s o n überhaupt keine typischen Formen. Im

übrigen steht und fällt die Methode mit der Möglichkeit, Hb-Kristalle darzustellen, über deren Schwierigkeit wir oben bereits gesprochen haben.

3. Etwas mehr Erfolg hatte schon die *mikrometrische Messung der Größe der roten Blutkörperchen*, die mit dem Okularmikrometer oder mit dem Okularschraubenmikrometer ausgeführt wurde. Sie konnte wenigstens in frischem, flüssigem oder noch feuchtem Blut durch zahlreiche Messungen die durchschnittliche Größe der Blutkörperchen schätzen und daraus einen Wahrscheinlichkeitsschluß auf die Blutart machen.

Heute, wo wir exaktere Methoden zur Hand haben, genügt uns ein so approximativer Schluß nicht mehr.

Dagegen sehen wir auch heute noch in der *Kern Darstellung* mit 5proz. Essigsäure, wie ich sie oben S. 81 beschrieben habe, ein einfaches und forensisch verlässliches Mittel, die Blutkörperchen der Vögel, Amphibien, Reptilien und Fische von denen der Säuger abzugrenzen.

Es mag aber hier noch einmal darauf hingewiesen werden, daß die Auflösung des Plasmas und das Zurückbleiben der Kerne nach dem Zusatz der Essigsäure im Mikroskop fortwährend verfolgt und beobachtet werden müssen, wenn man bei unreinen Objekten vor Täuschungen bewahrt bleiben will.

4. Ehrlich und nach ihm Corin glaubten in den *neutrophilen ε-Granulationen der Leukozyten*, gefärbt mit Ehrlich'scher Triazidlösung (gesätt. wäßr. Lösung, Orange G 125 + gesätt. alkohol. Fuchsinlösung 125 + gesätt. wäßr. Methylgrünlösung 125 + Alc. absol. 75), eine für menschliche Blutkörperchen spezifische Erscheinung zu sehen. Tamassia, Ilberg und Hirschfeld fanden sie jedoch auch im Tierblut, wenn sie hier auch an Größe, Anordnung und Färbungsverhalten (sie nehmen einen mehr roten Farbenton an) den menschlichen nicht gleich kommen.

5. Körber, Krüger und nach ihnen Magnanimi und Ziemke suchten die Blutart aus der verschiedenen *Resistenz des Blutfarbstoffes gegen Alkalien* zu erkennen. Menschenblut widersteht der Umwandlung aus OxyHb in alkalisches Ht (mittels verdünnter KOH) länger als gleich altes und gleich konzentriertes Tierblut.

Die Technik ist nach Ziemke folgende:

Durch Einstich ins Ohrläppchen werden 5 Tropfen Blut entnommen und in 10 ccm einer $\frac{1}{10}$ proz. Sodalösung aufgefangen. Diese Stamm-lösung wird auf ca. 1 : 160 verdünnt und filtriert. Zu 5 ccm dieser OxyHb-Blutlösung in planparallelen Glaskästchen werden 2,5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Kalilauge gefügt und unter Kontrolle des Spektroskopes die Zeit festgestellt, welche bis zur Umwandlung des Oxy Hb in alkalisches Ht vergeht.

Bei Menschenblut betrug diese Zeit im Mittel (aus 25 Untersuchungen) 5,53 Minuten, bei frischem, flüssigem Blut;

Bei Tierblut (29 Untersuchungen) 71,33 Minuten, bei frischem, flüssigem Blut. Auch bei angetrocknetem Blute waren Zeitunterschiede von mehr als einer Stunde vorhanden.

6. In ähnlicher Weise versuchte v a n I t a l l i e neuerdings, den verschiedenen Gehalt und Widerstand an im Blute vorhandenem k a t a l y t i s c h e n F e r m e n t (K a t a l a s e) zur Unterscheidung heranzuziehen. Im Tierblut lasse sich dieses durch halbstündige Erhitzung auf 63° völlig vertreiben, zerstören, während Menschen- (und auch Affen-) Blut nach dieser Behandlung noch katalytisch auf H_2O_2 wirke, weil es katalase-reicher sei (Menschenblut soll z. B. viermal mehr Sauerstoff entwickeln als Rinderblut und zehnmal mehr als Hammelblut).

v a n I t a l l i e erhitzt 5 ccm einer Blutlösung von der Verdünnung 1 : 1000, läßt abkühlen bis auf 15°C und fügt zu der Lösung im Gärungsröhrchen 3 ccm einer 1 proz. neutralen H_2O_2 -Lösung zu. U h l e n h u t h , P f e i f f e r und D a s k e haben jedoch gezeigt, daß dieses Phänomen nicht konstant ist, daß Tierblut (Schwein, Ziege, Meerschweinchen, Reh, Eule), besonderes älteres angetrocknetes, nach der Erhitzung noch katalytisch wirken kann, während Menschenblut zuweilen versagte. Wahrscheinlich handelt es sich also um ein sehr empfindliches leicht vergängliches Enzym.

Die Agglutinationsproben.

Im Jahre 1869 beobachtete C r e i t e , daß mit fremdartigem Blut behandelte Tiere erkrankten und Hämoglobinurie zeigten. Seit L a n d o i s (Zur Lehre von der Bluttransfusion, 1875) weiß man, daß Einverleibung fremdartigen Blutes in die Blutbahn das Leben dadurch auf das äußerste gefährdet, daß die eingeführten fremden Blutkörperchen sich zusammenballen, Gerinnungen und Verstopfung der Blutbahn verursachen, bevor

sie zerstört und aufgelöst werden. L a n d o i s und B o r d e t zeigten dann weiter, daß auch außerhalb des Tierkörpers Erythrozyten der einen Spezies durch das (heterologe) Serum einer anderen Spezies unter Verlust ihrer Form zusammengeballt werden (H ä m a g g l u t i n a t i o n), und daß es schließlich auch hier zu einer Zerstörung der roten Blutkörperchen (Z y t o l y s e) unter Freiwerden des Blutfarbstoffes (H ä m o l y s e) und Bildung von Stromatafibrin kommt. Die dabei wirksamen Antikörper sind die A g g l u t i n i n e und die H ä m o l y s i n e. (Normal-Agglutinine und -Hämolysine im Gegensatz zu den durch Vorbehandlung mit defibriniertem Blut im Tierkörper entstehenden spezifisch wirkenden Immun-Agglutininen und -Hämolysinen.)

Mannigfaeh sind die Erklärungsversuche des Phänomens der Agglutination. Ob es sich dabei um einen physikalischen Vorgang (B o r d e t, A s a k a w a) oder um einen chemischen Prozeß handelt (N i c o l l e: substance agglutinative — P a l t a u f: Präzipitationswirkung — G r u b e r: Glabrifizinwirkung — M y e r s: Proteidwirkung — J o o s, F r i e d b e r g e r, A l b r e c h t: Wirkung des Salzgehaltes des Serums. — G i r a r d - M a n g i n, W e i d e n r e i c h: Kolloideigenschaften des Serums), darüber herrscht noch keine Einigkeit. Wenn man im Mikroskop beobachtet, wie die Erythrozyten in der nach dem Zusatz des heterologen Serums entstehenden Bewegung, wenn sie sich begegnen und berühren, aneinander hängen bleiben, erst zwei, drei, dann immer mehr, wie die Häufchen zusammenbacken, die einzelnen Erythrozyten ihre Form verlieren, ihr Hämoglobin austreten lassen und schließlich der Auflösung verfallen, neigt man unwillkürlich der Auffassung zu, daß die Agglutination zweifellos durch eine chemische Veränderung der Hülle der Blutkörperchen eingeleitet wird, daß aber ebenso zweifellos chemische Kräfte des umgebenden Mediums, des Serums, die Ursache des Phänomens sind. Und es ist interessant, zu sehen, wie dieser chemische Einfluß sich lediglich auf die heterologen Blutkörperchen erstreckt. Mischt man zwei Arten von Blutkörperchen, also etwa menschliche und Hühnerblutkörperchen, auf dem Objektträger und versetzt sie mit Hühnerserum, so sieht man, wie nur die menschlichen Blutkörperchen sich zusammenballen, während die kernhaltigen ovalen Vogelblutkörperchen ruhig aneinander und an den sich bildenden Häufchen menschlicher Erythrozyten vorbei-

wandern und schließlich regellos und unverändert zwischen denselben liegen bleiben.

Mit der Geldrollenbildung hat die Agglutination nichts gemein. — Wie bei der Präzipitation ist auch bei der Agglutination ein gewisser Salzgehalt der Lösung erforderlich; zu hoher vermindert sie.

Nach D e D o m i n i c i s zerstört Erhitzung auf 150° C die Agglutinationsfähigkeit eines Serums; das scheint indes wenig plausibel, da die meisten Antikörper viel früher zugrunde gehen. C a r r a r a fand denn auch, daß schon 70° C in wenigen Minuten die Agglutinine vernichtet. Schon früher, bei 50° C, werden die Hämolysine zerstört.

Auch beim Austrocknen und Altern des Blutes vermindert sich die Agglutinationsfähigkeit seines Serums und kann sogar ganz verloren gehen. U h l e n h u t h fand sie nicht mehr in 2—3 Jahre altem Rinderblut und Pferdeserum, M a r t i n schon nach weit kürzerer Zeit nicht mehr. Andererseits war sie wieder in 6—7 jährigem Pferdeserum (U h l e n h u t h), ja sogar in 24 und 37 Jahre alten Blutflecken (H. P f e i f f e r) erhalten geblieben.

Entsprechend der Verminderung der Agglutinine in älterem getrockneten Blut ist die Reaktion mit Extrakten aus solchem langsamer und unvollständiger als mit frischem Blutserum, oder sie bleibt gar aus. Andererseits schwächt aber auch hohe Konzentration, also hoher Agglutiningehalt des Serums, die Agglutination ab oder verhindert sie. Daher geben die Normalsera in Verdünnungen von $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ deutlicher und schneller Agglutination als in unverdünntem Zustand (Reaktionsoptimum).

Die heterologe Agglutination ist nun kein beständiges Phänomen; im Blutserum finden sich häufig, nach einigen sogar regelmäßig, auch J s o a g g l u t i n i n e und I s o l y s i n e (M a r a g l i a n o, H a l b a n und L a n d s t e i n e r, S h a t t o c k, D o n a t h, G r ü n b a u m, L o M o n a c o, P a n i c h i, G r i x o n i, C a m u s und P a g n i e z, A s c o l i, E i s e n b e r g, v. D e c a s t e l l o und S t u r l i, G a l l i - V a l e r i o), d. h. Antikörper, welche die Blutkörperchen, wenn auch nicht aller, so doch der meisten Individuen derselben Art, also des homologen Blutes, zusammenballen und auflösen. (Siehe Tafel I, Fig. 6.) Ja, A. K l e i n, D o n a t h, L o M o n a c o, A s c o l i

haben sogar „A u t o a g g l u t i n a t i o n“ der Blutkörperchen eines Individuums durch sein eigenes Blutserum gefunden; dieser beim Pferd, jene beim Menschen. Wenn auch A s c o l i Autoagglutination bei gesunden Individuen gesehen hat, so wird diese doch im allgemeinen mehr mit Veränderungen des Blutes bei schweren Krankheiten in Verbindung gebracht. So fand D o n a t h Autoagglutinine bei Chlorose, L o M o n a c o , P a n i c h i und G r i x o n i bei Malaria, A s c o l i bei Krebs, Pneumonie, Phthisis, Typhus. Ob das auch von den I s o a g g l u t i n i n e n gilt, erscheint jedoch fraglich, da L a n d s t e i n e r solche regelmäßig im normalen Menschenserum konstatierte.

Diese Tatsache, daß sich regelmäßig oder nach anderen fast regelmäßig Isoagglutinine, dann aber niemals Autoagglutinine im Blute Gesunder finden, hat L a n d s t e i n e r mit R i c h t e r für die forensische Praxis nutzbar zu machen und auf ihr eine individuelle Blutdifferenzierung zu begründen gesucht.

Wenn jemand z. B. behauptete, die an seinen Kleidern gefundenen Blutflecken rührten von seinem eigenen Blut her, und zwar von Nasenbluten, so lasse sich durch den Agglutinationsversuch die Wahrheit dieser Aussage prüfen. Würden die Blutkörperchen des Betreffenden von dem Extrakt aus den Blutflecken (iso-) agglutiniert, so sei die Unwahrheit der Angabe erwiesen.

V e r d i e u bestätigte diese Untersuchungen von L a n d s t e i n e r und R i c h t e r. Da indes nach anderen die Isoagglutinine nicht regelmäßig vorkommen und nicht lange in angetrocknetem Blut (U h l e n h u t h , M a r t i n) haltbar sind, so ist jedenfalls der negative Ausfall der Probe nicht beweisend. Der positive wird jedoch auch von S a c h s als beweiskräftig angesehen. Nach M a r x - E h r n r o o t h gehen die Isoagglutinine im angetrockneten Blut schon nach etwa 2—4 Wochen zugrunde, während die Agglutinine sich länger halten sollen; auch sei die heterologe Agglutination stürmischer als die homologe Isoagglutination; bei letzterer finde mehr Geldrollenbildung statt. Sie haben daher die heterologe Agglutination zur Differenzierung der Blutart im weiteren Sinne empfohlen, speziell zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut.

Aber dabei ist in Rechnung zu ziehen, daß bei frischen Blutspuren Isoagglutination nicht so selten ist, und daß diese

auch zur Zytolyse, zur Deformation und Auflösung der Blutkörperchen, führen kann, wenn ein konzentrierter Extrakt verwendet wird. *Martin* sah auch die Isoagglutination stürmisch verlaufen; auch *Blank* weist auf die Möglichkeit einer Isoagglutination hin.

Sutherland erhielt keine Agglutination menschlicher Blutkörperchen von Kanarienvogelblutextrakt, dagegen Agglutination seiner Blutkörperchen mit einem Menstrualblutextrakt und will nur in einem einzigen Falle heterologe Agglutination gefunden haben, nämlich die von menschlichen Blutkörperchen durch Kaninchenblutextrakt. *Martin's* Erythrozyten wurden dagegen von Kaninchenblutextrakt nicht agglutiniert; hier blieb die heterologe Reaktion aus.

Aus älteren angetrockneten Blutspuren ist vielfach nur ein schwacher Extrakt auszulaugen, der nur eine langsame, schwache, zu wenig typische oder gar keine Reaktion gibt; sei es, daß die Agglutinationsfähigkeit im Blute verloren gegangen ist, oder daß nicht genügend agglutinierendes Serum mehr durch die Extraktion erhalten wurde. Ein negativer Ausfall der Reaktion ist da also nicht beweisend.

Alle diese und die folgenden Fehlerquellen machen Kontrollen erforderlich, die wir noch besprechen werden. Nach *De Dominicis* verleiht nämlich auch Fäulnis menschlichem Blute agglutinierende Wirkung, so daß es für heterolog gehalten werden könne. Nach demselben Autor agglutinierten Meconium, frisches Hühnereiweiß, Eidotter, verschiedene Pflanzensäfte ebenfalls, während Humor aqueus, Galle, Sperma, Schweiß, Speichel, Harn, Eiter, Faeces sich unwirksam zeigten. Bakterienanwesenheit, die in älteren Blutspuren meist zu erwarten ist, kann nach *Sturlin* an sich schon Agglutination und Zytolyse verursachen. Endlich wirken die Agglutinine der verwandten Blutarten in gleichem Sinne, die des Affenblutserums z. B. wie die des Menschen, so daß also eine Unterscheidung der Gattung durch die Reaktion nicht möglich ist.

Nach alledem ist weder die Isoagglutination zur Differenzierung individueller Blutarten noch die heterologe Agglutination zur Unterscheidung der Blutarten der Spezies vom forensischen Standpunkt aus genügend ver-

läßlich, als daß sie mehr beanspruchen könnten als den Wert einer Wahrscheinlichkeitsprobe bzw. einer Vorprobe, deren Ausfall mit Vorsicht zu beurteilen ist.

Technik der Agglutinationsprobe: Aus der Blutspur wird ein möglichst konzentrierter Extrakt bereitet, indem man ein Partikelchen derselben in einem Uherschälchen mit einigen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung unter sanftem Pressen mit einem Glasstabe auslaugt. Bei älteren Blutspuren, die schwer löslich sind, wird diese Mazeration u. U. bis zu 24 Stunden dauern müssen. Am besten dann auf Eis. Gelingt es auch so nicht, einen genügend konzentrierten dunkelbraunen Extrakt zu erhalten, so kann man nach Carrara Boraxlösung oder Pacinische Flüssigkeit verwenden, da diese die Agglutination nicht behindern, nicht aber die anderen Blutlösungsmittel.

Hat man einen dunkelbraunroten Extrakt erhalten, so bereitet man aus einem minimalen Bluttröpfchen der Fingerkuppe und physiologischer Kochsalzlösung eine dünne Blutaufschwemmung. Von dieser setzt man ein kleines Tröpfchen auf ein Deckgläschen, fügt einen größeren Tropfen von dem Extrakt hinzu, mischt beide schnell mit einer Glasnadel und beobachtet die Reaktion im hängenden Tropfen. Das ist besser, denn unter dem direkt aufliegenden Deckglas stören oft Austrocknungserscheinungen (Maulbeerform der Blutkörperchen), die zu Fehlschlüssen führen können. Die Reaktion muß spätestens in 20 bis 30 Minuten eingetreten sein; gewöhnlich ist dies, wenn genügend agglutinierendes Serum aus dem Blutfleck erhalten wurde, schon in wenigen Minuten der Fall. Je stürmischer die Reaktion verläuft, desto eindeutiger ist sie. Schieben sich die Blutkörperchen also sofort zusammen, verkleben zu Häufchen, verlieren nach und nach ihre deutliche Form und lösen sich schließlich auf, so stammt der Extrakt von Tierblut — vorausgesetzt, daß keine Isoagglutination stattgefunden hat.

Um diese und andere Fehlerquellen auszuschließen, macht man am besten die Gegenprobe mit Tierblutkörperchen (vom Kaninchen oder Meerschweinchen) und Extrakt aus der Blutspur.

Oder man setzt noch einen Tropfen einer 20—25 proz. Verdünnung des eigenen Bluts erum s zu, das man von

einigen mit Kochsalzlösung gemischten Blutstropfen aus der Fingerkuppe absitzen läßt und mit einer Kapillare absaugt. Nach den Untersuchungen *Malakoff's* wird nämlich ein Serum A, welches Blutkörperchen B agglutiniert, durch Zusatz von Serum B inaktiviert, unwirksam, während ein isoagglutinierendes Serum dadurch verstärkt wird. Nimmt also im erneuten Versuch die Agglutination ab oder schwindet ganz, so ist der Extrakt Tierblut. (Auch aus diesem Grunde soll man im Hauptversuch nicht zu viel von seinem Blute zusetzen.)

Endlich kann man noch den weiteren Kontrollversuch machen, zu der Mischung von Erythrozyten und agglutinierendem Serum (Extrakt) eine kleine Menge verdünnten präzipitierenden Serums zuzusetzen, welches für die Blutkörperchenspezies spezifisch ist, in unserem Falle also menschliches Präzipitinserum. Die Agglutination tritt dann, wie *Moreschi* nachwies, in beschleunigtem, verstärktem Maße auf.

Die geeignete Temperatur zur Anstellung der Probe ist Zimmertemperatur (15°), wenn auch die Reaktion bei Brutschranktemperatur (37°) schneller eintritt.

Die biologische Serum-Präzipitinreaktion.

Die biochemische Eiweißreaktion, Präzipitinreaktion, wie sie *Uhlenhuth* und *Wassermann-Schütze* für die forensische Praxis nutzbar gemacht haben gründet sich auf der Erzeugung spezifischer Antikörper, der *Präzipitine*.

Die Entdeckung dieser Schutzstoffe, die wir *Rudolf Kraus* in Wien 1897 und *Tchistovitch-Bordet* in Paris 1899 verdanken, und die ein wichtiger Schritt weiter auf der Bahn der von *Behring* eingeleiteten Antitoxinstudien war, ermöglicht es uns heute, die verschiedenen Eiweißarten, vor allem also menschliches und tierisches Eiweiß, voneinander zu unterscheiden.

R. Kraus fand, daß das Serum von Tieren, die mit bestimmten Bakterienarten geimpft worden waren (Cholera, Typhus), in den Kulturfiltraten dieser zur Impfung benutzten Bakterien, und zwar nur in diesen, einen Niederschlag erzeugte. Dieselbe Erscheinung wurde dann bald auch von anderen Seiten bestätigt, so von *Nicolle* für Coli, von *Wladimiroff* für Rotz, von *Markl* für Pest, von *Marmorek* für Streptokokken usw.

Tchistovitch und Bordet dehnten die Versuche auf die Vorbehandlung der Tiere mit Eiweißlösungen aus. Ersterer injizierte Kaninchen Aal- und Pferdeserum, letzterer Hühnerblut und Milch, und beide konnten mit den von den Tieren gewonnenen Immunseren in den zur Injektion benutzten Eiweißlösungen Niederschläge erzielen, die für diese spezifisch waren.

Uhlenhuth, Wassermann-Schütze sowie Stern wiesen dann 1900 gleichzeitig und unabhängig voneinander auf Grund von Versuchen auf den Wert dieser Reaktion für forensische Zwecke hin.

Unter gewissen Voraussetzungen, die sich besonders auf das Mengenverhältnis zwischen dem Präzipitin und der artgleichen Eiweißlösung, der präzipitablen Substanz, und auf die Zeit, in welcher die Reaktion eintritt, beziehen, ist die Präzipitinreaktion als spezifisch anzusehen, und es gilt das Gesetz, daß das Serum eines Tieres A, welchem Blut, Blutserum oder überhaupt Eiweißlösung eines Tieres B einverleibt wurde, nur in den artgleichen Blut- bzw. Eiweißlösungen der Tierart B Niederschläge erzeugt.

Der entstehende Niederschlag, Präzipitat, kommt zustande durch Zusammentreten zweier Substanzen, des im Antiserum des Tieres A enthaltenen Präzipitins und des in der homologen Eiweißlösung der Tierart B enthaltenen Präzipitinogens.

Die chemische Natur dieser Substanzen ist noch nicht völlig geklärt; sie sind mit den Eiweißkörpern der Eiweißlösung eng verbunden; ob sie selbst Eiweißkörper sind, ist ungewiß. Ungewiß ist auch, ob es überhaupt einheitliche Körper sind. Ihre chemische Isolierung ist bis jetzt noch nicht gelungen.

Bei fraktionierter Ausfällung erscheinen die Präzipitine in der Euglobulinfraktion, weiter hat man sie noch nicht isolieren können.

Auch die Bildungsstätte dieser Antikörper ist noch nicht mit Sicherheit bekannt.

Brezina nimmt als solche Milz und Knochenmark an; Rud. Kraus die Blutbahn, in die sie, speziell im Netz, von den Gefäßendothelien oder von den Leukozyten abgeschieden werden, denn das Blut fand sich stets antikörperreicher als die Organe.

Durch den Ablauf der Reaktion, mit der Bildung des Niederschlages werden die beiden Substanzen verbraucht, erschöpft,

so daß bei weiterem Zusatze ihrer Gegensubstanz keine Präzipitation mehr erfolgt.

Was die für forensische Zwecke hauptsächlich in Betracht kommende Unterscheidung von Menschen- und Tierblut betrifft, so muß man sich allerdings die Tatsache vor Augen halten, daß ein auf die erwähnte Art gewonnenes Antiserum (Immunserum, Präzipitinserum, Aktivserum) nicht nur in homologen Blutlösungen, sondern auch in allen homologes Eiweiß enthaltenden Organextrakten, kurz in jeglichem artgleichen Eiweiß (Antigen) einen Niederschlag auslöst. Ein mittels Blut dargestelltes präzipitierendes Serum fällt auch Organeiweiß von Leber, Niere, Milz, Muskulatur; es präzipitiert auch Eiweißlösung aus Sperma, Milch, Harn, Pleuraexsudat, Ascites-, Hydrocele-Flüssigkeit, eitrigem Sputum, Nasenschleim. Und umgekehrt erhält man durch Injektion aller dieser Eiweißlösungen ein auf Blut präzipitierend wirkendes Immunserum.

Allerdings sind die Niederschläge schwächer als in dem organgleichen Eiweiß. Indes ist dieser Unterschied für die forensische Praxis nicht erheblich genug, die Organspezifität nicht genügend ausgesprochen, um die Reaktion als eine spezifische Blutprobe ansehen zu können. Sie kann nur als eine Eiweißprobe gelten und macht daher forensisch den (chemischen, mikroskopischen, spektroskopischen) Nachweis, daß Blut vorliegt, nicht überflüssig.

Ferner hat sich gezeigt, daß auch die Artspezifität keine so ganz absolute ist, da unter gewissen Umständen auch in fremdartigen (heterologen) Eiweißlösungen Niederschläge auf Zusatz des Antiserums auftreten können. Sehr stark wirksames, hochwertiges, auf menschliches Eiweiß eingestelltes Antiserum erzeugt auch in Säugetier-Blutlösungen eine allerdings erst nach längerer Zeit entstehende und schwächere Fällung.

Die Bildung des Niederschlages ist endlich von einem bestimmten Mengenverhältnis des Präzipitins und des Präzipitinogens zueinander, von dem Salzgehalt der Mischung und von der Temperatur abhängig.

Nach Versuchen Horiuchis geht die Präzipitation am besten vor sich bei einem Kochsalzgehalt von 0,5—1,0 %; Schüller fand aber, daß die Reaktion in $\frac{1}{1000}$ Verdünnung noch bei 9 % Salzgehalt sofort eintritt und erst bei 9—15 %

schwächer wurde; in $1/10\,000$ Verdünnung blieb sie dagegen schon bei 4 % aus.

Alle diese Tatsachen haben, um in der forensischen Praxis schwerwiegende Irrtümer zu vermeiden, zur Aufstellung feststehender, an das Antiserum zu stellender Anforderungen und für die Ausführung und Beurteilung der Reaktion geltender Normen geführt, die im folgenden kurz skizziert sein mögen:

1. Das verwendete Antiserum muß vollkommen klar sein; es darf vor allem nicht opaleszieren; es muß hochwirksam, möglichst art- und organspezifisch und von einer bestimmten Wertigkeit sein, d. h. mindestens in einer Serumverdünnung von 1 : 20 000 in 5 Minuten noch eine deutliche Fällung geben.

2. Die Fällung kommt am ausgiebigsten zustande, die Reaktion hat ihr Optimum bei einer gewissen optimalen Konzentration sowohl des Antigens wie auch des Antiserums; die des Antiserums entspricht etwa der Wassermannschen Präzipitierungs-einheit (s. d.), die des Antigens einem Verdünnungsgrade von 1 Teil in 1000 Teilen physiologischer NaCl-Lösung. Überschuß an präzipitabler Substanz, also stärkere Konzentration, hemmt die Reaktion und hält die Niederschlagsbildung in Lösung, umgekehrt kann aber auch zu große Verdünnung der Eiweißlösung den Niederschlag in Lösung halten.

Die zu untersuchende Eiweißlösung soll also ungefähr den Verdünnungsgrad 1 : 1000 haben. Diesen hat sie etwa, wenn sie, aus der Blutspur hergestellt, bei durchfallendem Lichte fast farblos, höchstens ganz schwach gelblich gefärbt ist, stark geschüttelt einige Zeit bestehende bleibende Schaumbildung zeigt und gekocht und mit Salpetersäure versetzt sich gleichmäßig opaleszierend leicht trübt und erst nach einigen Minuten einen eben erkennbaren Niederschlag gibt.

3. Als Lösungsmittel des zu untersuchenden Objektes ist nur sterile isotonische sog. physiologische (0,85 proz.) Kochsalzlösung zu verwenden. Brunnen-, Leitungs- oder destilliertes Wasser gibt schon auf Zusatz eines ganz beliebigen Serums Trübungen, die wahrscheinlich auf der Ausfällung von Globulinen beruhen. Soda-, Boraxlösungen sind zu starke Alkalien.

4. Die zu untersuchende Eiweißlösung soll neutral, schwach sauer oder schwach alkalisch reagieren; stärkere saure oder alka-

lische Reaktion beeinträchtigt die Präzipitatbildung (die Präzipitine lösen sich in starken Säuren und Alkalien). Zur Neutralisation dient 0,1 proz. Sodalösung oder (Schmidt) Magnesiumoxyd.

5. Das Antiserum soll der zu untersuchenden Eiweißlösung im Verhältnis 1 : 10 also 0,1 ccm zu 0,9 ccm, zugesetzt werden.

6. Die Reaktion soll bei Zimmertemperatur (10—15° C) möglichst sofort sich einstellen, spätestens aber nach 5 Minuten eine hauchartige Trübung zeigen, die nach weiteren 5 Minuten wolkig wird und nach weiteren 10 Minuten sich in Flocken zu Boden senkt. Innerhalb 20 Minuten etwa muß die Reaktion diese Phasen durchlaufen haben und beendet sein, wenn sie noch als beweisend angesehen werden soll.

7. Die Reaktion ist eine Gruppenreaktion, d. h. innerhalb ein und derselben Art ist die Differenzierung nahe verwandter und individueller Eiweiße nicht nur mit großen Schwierigkeiten verknüpft, sondern auch vielfach nicht möglich. Ein auf Menscheneiweiß eingestelltes Antiserum fällt auch Affeneiweißlösung. Die zur Ausschaltung dieser Beschränkung angestellten und zum Teil schon erfolgreichen Versuche werden weiter unten ausführlich besprochen werden.

Außer zur Differenzierung von Eiweißarten mittels der Präzipitinreaktion verwenden wir heute spezifisches Antiserum bei der Komplementbindung zu dem gleichen Zweck, beim quantitativen Blut- bzw. Eiweißnachweis, bei der Nahrungsmittelkontrolle z. B. zum Nachweis von Fleischverfälschungen, bei der Serodiagnose der Syphilis nach Wassermann, kurz zu dem vielseitigen Nachweis von Eiweißkörpern fraglicher Herkunft und Menge.

Die Wichtigkeit, welche ein tadelloses Präzipitins serum für die forensische Praxis hat, macht es erforderlich, daß wir uns zunächst mit der

Bereitung, Gewinnung und Konservierung desselben etwas eingehender beschäftigen.

Die zur Vorbehandlung geeignete Tierart.

Zur Gewinnung spezifischer Antisera eignet sich nach allgemeiner Erfahrung am besten das langohrige Kaninchen. Es

liefert schneller und sicherer ein wirksames Serum als andere Tiere. Meerschweinchen verlangen eine viel länger dauernde Vorbehandlung und geben auch dann nur Seren von schwacher Wirksamkeit. Die Versuche mit größeren Tieren — an Ziegen, Hunden, Rindern, Pferden sind solche gemacht worden — haben bisher auch kein befriedigendes Resultat gezeitigt.

Nur wenn ein Antiserum zur Unterscheidung der Eiweiße nahe verwandter Tiere bereitet werden soll, müßte man, wie wir später sehen werden, auch auf andere Tiere als Kaninchen zurückgreifen.

Selbstverständlich sind nur ganz gesunde, kräftige Kaninchen auszuwählen. Junge, aber ausgewachsene Tiere eignen sich besser als alte.

Besonders Gewicht ist auf gute, reichliche Fütterung zu legen. Schlecht genährte, hungernde Tiere bilden keine Antikörper. Kohl, besonders Blumenkohl, Rüben, reichlich Hafer und Heu sollen während der Injektionszeit gegeben werden. Milch und Wasser sind zu vermeiden, die Tiere bekommen davon leicht Schnupfen (B o r c h m a n n).

Da wir in der Gewichtsabnahme während der Vorbehandlung einen Maßstab für das Wohlergehen, allerdings nicht für die Antikörperbildung des Tieres haben, sind regelmäßige Wägungen der gespritzten Tiere nicht zu unterlassen. Soll die Wägung aber verläßlich sein, so muß sie stets zu derselben Tageszeit, etwa morgens vor dem Füttern, und genau in derselben Weise erfolgen. Andernfalls kann man Unterschiede bis zu 200 g erhalten, die auf die Nahrungsaufnahme zurückzuführen sind.

Der Stall sei zur Vermeidung von Stallseuchen (Septikämie, Lungen-, Brustfellentzündung) luftig und leicht zu reinigen. Man muß verhüten, daß das Tier die Injektionsstelle beleckt und benagt oder sich benagen läßt. Kollodiumschutz hat sich mir nicht bewährt; er reizt gerade zum Belecken und Benagen. Einen ganz natürlichen Schutz bietet das Haarfell, ich bin daher vom Rasieren der Injektionsstelle ganz abgekommen. Manchmal ist Isolierung des Tieres nicht zu umgehen.

Nimmt das Tier infolge mangelnder Freßlust merklich an Gewicht ab, so stellt man die Injektion einige Zeit ein, um sie später, wenn es sich wieder erholt hat, fortzusetzen. Im Anfang ist die Wirkung der Einspritzung auf das Tier eingreifender, erst

allmählich tritt Gewöhnung ein. Oder man ändert die Art der Einspritzung, wählt eine weniger angreifende. Die am langsamsten wirksame Injektionsart ist auch die am wenigsten angreifende, also die subkutane. Wirksamer und empfindlicher ist die intraperitoneale, am schnellsten, aber auch am angreifendsten die intravenöse.

Bekanntlich geht die Fähigkeit, Immunsorum zu liefern, von einer geimpften trächtigen Mutter (ob auch vom geimpften Vater, steht noch offen) auf die Jungen über; auch deren Serum zeigt Präzipitingehalt, wenn auch schwächeren als das der Mutter; es dürfte sich der Versuch lohnen, die herangewachsenen, zur Antikörperbildung disponierten Jungen ebenfalls, natürlich mit demselben Serum wie die Mutter, zu impfen und belegen zu lassen, um auf diese Weise ein gut reagierendes Geschlecht heranzuziehen.

Das Material zur Vorbehandlung.

Die Beschaffung möglichst frischen und steril aufgefangenen Blutes der Art, die nachgewiesen werden soll, ist die erste Sorge.

Tierisches liefern die Schlachthäuser, Abdeckereien; doch muß man sich vergewissern, daß das Blut von gesunden Tieren stammt. Auf Sterilität wird man hier verzichten müssen. Vom lebenden Tier (Pferd, Schaf, Ziege usw.) gewinnt man es am besten steril aus der Jugularvene. Nachdem durch einen um den Hals des Tieres gelegten Strick die Vene zum Anschwellen gebracht und die darüber liegende Haut gründlich rasiert und desinfiziert worden ist, wird mittels sterilen Troikarts das Blut aus der Vene entnommen. Bei Geflügel schneidet man nach Beseitigung der Federn und nach Desinfektion mit Ätherbausch eine Flügelarterie an.

Schwieriger ist zuweilen die Beschaffung menschlichen Blutes in der benötigten Menge. Mit Plazentarblut aus den Gebäranstalten, Schröpf- und Aderlaßblut muß man sich hier begnügen.

Ersteres gewinnt man auf folgende Weise. Nach der Geburt und Abnabelung des Kindes wird das plazentare Ende der Nabelschnur in ein steriles Zylinderglas gelegt, durch Druck auf den Uterus das retroplazentare und das noch in der Placenta befindliche Blut hervor- und in das Glas gepreßt, endlich auch das Nabelschnurblut ausgedrückt. Das Glas wird mit sterilem Pergament-

papier verschlossen. Von jeder Geburt gewinnt man auf diese Weise 20—30 ccm Blut, die etwa halb so viel Serum geben.

In Italien ist es längst Sitte, daß sich Personen gegen Entgelt vom Serologen zur Ader lassen. Hierzu wird der Oberarm der Person mit einem Handtuch bis zur Anschwellung der Hautvenen umschnürt. Besonders die Vena mediana tritt deutlich in der Ellenbeuge hervor. Die Haut wird hier mit Alkohol abgerieben, die Vene mit einer weiten Hohnadel angestochen und das langsam abtropfende Blut in sterilem Reagenzglas aufgefangen. Die Prozedur ist ganz gefahrlos und liefert leicht 50—100 ccm Blut bzw. halb so viel Serum. Es empfiehlt sich, das Blut nüchtern, morgens früh, zu entnehmen, das Serum ist dann am klarsten.

Wem Leichen zugänglich sind, kann auch von diesen, solange sie frisch sind, Blut entnehmen (Z i e m k e, N u t t a l, H a u s e r, S c h m i d t). Es ist dann allerdings mehr Material und eine längere Vorbehandlung nötig. Man kann den Brustkorb der Leiche öffnen und nach Eröffnung des Herzbeutels und horizontaler Durchschneidung des Herzens das Blut aus beiden Herzhälften in den Herzbeutel sich entleeren lassen, aus diesem es mit steriler Pipette — mit weiter Öffnung — absaugen und das Serum durch Zentrifugieren schnell abscheiden.

Mehr Material erhält man, wenn man nach H a u s e r ein Glasrohr in die Vena jugul. ext. einführt bis in den rechten Vorhof und dann durch Heben des Extremitäten und der ganzen Leiche, Pressen auf das Abdomen das Blut entleert.

O b e r n d o r f e r weist darauf hin, daß sich in dem Herzen der Leiche, wenn sie längere Zeit sich in Ruhelage befunden hat, das Serum abscheidet und eine Schicht über dem Blutkuchen bildet. Man könne diese im rechten Vorhof befindliche Serumschicht der unversehrten Leiche mittels Injektionsnadel und Aspirationsballon entnehmen. Hierzu hat er einen praktischen kleinen Apparat angegeben. Die Sterilität ist hierbei am sichersten gewahrt. Allerdings erfordert der Kunstgriff einige Übung.

Die Verwendung von Eiweißlösungen aus Transsudaten und Exsudaten (pathol. Material) gehört wohl der Geschichte an.

Jedoch ist künstlich getrocknetes Blut, nachdem es mit physiologischer Kochsalzlösung gelöst ist, wohl zur Einspritzung zu benutzen und in manchen Fällen nicht zu umgehen, z. B. wenn es sich um Bereitung spezifischen Antiserums in der Schon-

zeit des Wildes handelt. Auch diese Methode erfordert viel Material und Zeit.

Am besten geschieht die Vorbehandlung der Tiere mit Blutserum oder defibriniertem Blut. Dies reicht auch für die Fälle aus, in welchen es sich nicht um einen Blutnachweis, sondern um den Nachweis von anderem Organeiweiß, z. B. einer bestimmten Fleischsorte in Würsten und dergleichen, handelt. Das Blutserum hat vor dem defibrinierten Blut viele Vorzüge. Man braucht weniger davon; seine Gewinnung ist einfacher, es läßt sich filtrieren und also besser sterilisieren. Man kann es intravenös applizieren, ohne die bei der Behandlung mit defibriniertem Blut auftretende und das Tier gefährdende Hämolysinbildung befürchten zu müssen.

Um das Serum zu gewinnen, läßt man das Blut zunächst bei gewöhnlicher Zimmertemperatur einige Stunden stehen und stellt es dann in den Eisschrank. Zur Lösung des an der Glaswand fest haftenden Blutkuchens bedient man sich einer ausgeglühten und wieder erkalteten Platinnadel, eines sterilen Glasstabes oder auch einer gewöhnlichen Präparierstahlnadel, die man aber nicht durch trocknes Ausglühen sterilisiert, sondern durch Benetzen mit Alkohol und kurzes Abbrennen. Nachdem der Blutkuchen sich gesenkt und das Serum sich abgesetzt hat, wird es mit steriler Pipette abgehoben und in sterile Reagenzgläser gefüllt. Will man das in dem Gefäß zurückbleibende Blut möglichst ausnutzen, so kann man den Blutkuchen mit einem sterilen Gewicht beschweren. Auf diese Weise erhält man von 30 ccm Blut etwa 10—15 ccm Serum. Etwa eingetretene Hämolyse stört nicht.

Zieht man vor, defibriniertes Blut einzuspritzen, so entfernt man den Faserstoff aus dem Blut durch Schlagen mit einem Glasstab oder Schütteln mit Glasperlen in einem Kölbchen (dies muß aber sofort geschehen, da sonst die eingetretene Gerinnung die Fibrinabscheidung hindert), gießt das Blutkörperchen haltende Serum in weite Reagenzgläser zu je 30 bis 40 ccm ab. Diese werden mit in 10 prozentige Formollösung getauchtem Wattepfropfen und Schweinsblasenkappe bedeckt, im Eisschrank oder in dem von Morgenroth angegebenen Gefrierapparat „Frigo“ aufbewahrt. Nur für den Fall, daß das Blutmaterial sehr gering ist, müßte man zu der Einverleibung des ganzen Blutes greifen, um es völlig auszunutzen. Man bedarf auch hierbei einer größeren Menge, und

aus diesem Grunde und wegen der eben erwähnten Gefahr der Hämolyse im Tierkörper ist in diesem Falle die intraperitoneale Einverleibung vorzuziehen.

Die Konservierung des Injektionsmaterials.

Da es sich, wie wir später sehen werden, empfiehlt, die Vorbehandlung mit dem Material aus ein und derselben Quelle zu beenden, tritt die Frage der Konservierung desselben an uns heran.

Die Durchsehung durch ein Kerzenfilter und Abfüllung in wohlverschlossene oder zugeschmolzene sterile Reagenzgläser ist zweifellos das beste Mittel.

Es genügt zwar auch schon der Zusatz einer kleinen Menge (etwa 10 %) Chloroform zu dem Serum, die sich zu Boden senkt und das darüber stehende Serum steril erhält. Indes bildet sich mit der Zeit an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein weißlicher Ring, ein Beweis, daß das Chloroform aus dem Serum Eiweiß ausgefällt hat. Dadurch geht ein Teil des Serums für den Zweck der Einspritzung verloren und das zur jedesmaligen Einspritzung benötigte Quantum Serum muß sehr vorsichtig abpipettiert werden, um keine Wirbel in dem Glase zu erzeugen. Die Konservierung mit Chloroformzusatz ist also nicht zu empfehlen.

Neuerdings spricht man allerdings der Chloroformkonservierung wieder das Wort. Zu Niederschlägen komme es nicht, wenn man mit einer fein ausgezogenen sterilen Pasteurschen Pipette zunächst dem Serum nur wenig Chloroform zusetze und das Glas sofort mit sterilem Glas- oder Gummistopfen verschließe. Erst am nächsten Tage soll dann eine größere Menge, bis zur Sättigung des Serums, hinzugegeben werden.

Von anderer Seite ist der Zusatz weniger Tropfen einer 0,2 bis 0,5 proz. Karbolsäurelösung oder je 1,0 ccm einer dreiprozentigen Karbolkoehsalzlösung auf 10,0 ccm Serum empfohlen worden. Dieser Zusatz schädigt das Tier nicht, wenn er mit dem Serum in die Blutbahn gerät. Die Einverleibung von Chloroform muß indessen streng vermieden werden, eventuell ist dasselbe vor der Einspritzung des Serums durch leichtes Erwärmen zur Verdunstung zu bringen.

Schwieriger ist die Konservierung von Blut als solchem, weil man es nicht durch keimdichte Filter schicken kann. Hier empfiehlt sich neben dem Zusatz der genannten Karbolkoehsalz-

lösung die von U h l e n h u t h vorgeschlagene Eintrocknung des defibrinierten Blutes in dünner (bis 5 mm) dicker Schicht in Petrischalen. Um Fäulnis zu verhüten, geschieht dies am besten beschleunigt im Brutschrank bei 37°. Um vor Verstaubung zu schützen, wird es nach dem Trocknen abgekratzt und in Glasgefäßen aufbewahrt. M o d i c a löst das getrocknete und pulverisierte Blut, um es zu sterilisieren, in 5 Gewichtsteilen Glyzerin auf und setzt die Lösung einen Tag lang einer Temperatur von 40—50° oder 48 Stunden einer solchen von 37° aus. Er injiziert je 2,0 ccm der Lösung.

Auf dieselbe Weise konserviert man auch die zahlreichen zu den später beschriebenen Kontrolprüfungen des Antiserums erforderlichen heterologen Blutarten.

Die Arten der Vorbehandlung.

Hat man auf die oben angegebenen Arten das Material zur Einspritzung bereitet, so kann man an die Vorbehandlung der Tiere gehen. Es ist zweckmäßig, stets gleichzeitig mindestens 4—5 Tiere zu spritzen, da die Kaninchen bezüglich der Präzipitinbildung starke individuelle Schwankungen zeigen, und nicht jedes Tier sich zur Antiserumbereitung eignet. Manche erkranken und sterben nach den ersten Einspritzungen unter erheblicher Gewichtsabnahme, ohne deutlich erkennbare Ursache (Serumkrankheit), während andere dieselben Manipulationen ungefährdet ertragen. Die Einverleibung des Materials kann i n t r a v e n ö s , i n t r a p e r i t o n e a l oder s u b k u t a n erfolgen. Welchen Weg man wählt, ist Sache des Geschmacks, wenn nicht etwa der Übung. Natürlich hängt er auch von der Art des Materials ab. Intravenös spritzt man besser nur Serum ein; intravenös appliziertes defibriniertes Blut gefährdet das Tier durch Hämolyisinbildung. Man weiß ja seit Landois, wie schädlich die Transfusion fremdartigen Blutes wirkt.

Die i n t r a v e n ö s e E i n s p r i t z u n g (in die Ohr-
randvene) ist zwar etwas schwieriger, aber sie wird von mir vorgezogen, weil sie in kürzerer Zeit mit dem geringsten Material zum Ziele führt. Auch braucht man bei dieser Art der Injektion nicht so ängstlich darauf bedacht zu sein, daß das Material absolut keimfrei ist. Die natürlichen Schutzkräfte im Blute des Tieres machen mit eingeführte Keime unschädlich.

Ob die Gefahr der Luftembolie in die Blutbahn wirklich eine so erhebliche ist, wie man bisher annahm, scheint mir zweifelhaft, nachdem ich in zahllosen Fällen kleine und auch größere Luftbläschen bei der Injektion habe eintreten sehen, ohne Schaden zu tun. Es ist vielmehr anzunehmen, daß die der Luftembolie zugeschriebenen plötzlichen Todesfälle auf anderen Ursachen beruhen. Seitdem die Chloroformkonservierung von mir verlassen ist, haben sich diese Todesfälle ganz erheblich vermindert. Und der letzte Rest ist auch noch ausgeblieben, seitdem das Injektionsmaterial im Wasserbad auf Blutwärme gebracht wird. Die Injektion von frisch aus dem Eisschrank kommendem Serum ist durchaus zu vermeiden; sie kann einen tödlichen Chok verursachen. Das gilt in gleichem Maße für die intraperitoneale Einspritzung.

Man kann natürlich intravenös nur kleinere Mengen, etwa 1—3 ccm jedesmal, einspritzen. Aber die Erfahrung hat gelehrt, daß es auf die einverleibte Menge des Antiserums nicht so sehr ankommt. Manche Tiere liefern schon nach wenigen Einspritzungen mäßiger Antigenmengen ein hochwertiges Antiserum, während andere, selbst auf große Quantitäten, kaum oder gar nicht reagieren. Das sind, wie gesagt, individuelle Schwankungen, über deren Ursachen wir nichts wissen.

Dagegen ist bei der Benutzung defibrinierten Blutes oder einer Lösung aus getrocknetem Blut, die natürlich sorgfältig filtriert und von jeder körperlichen Beimischung frei sein muß, die intraperitoneale Injektion vorzuziehen. Sie bedarf mehr Material, aber es lassen sich ungefährdet 10, ja auch 20 ccm und mehr einverleiben. Im allgemeinen ist auch das Bauchfell nicht sehr empfindlich gegen Infektionskeime.

Absolut keimfrei muß jedoch das Material sein, wenn subkutan gespritzt werden soll; andernfalls gibt es Infiltrate (Abszesse, Nekrosen), und solche kranken Tiere produzieren keine Antikörper. Auch ohnedies führt diese Art der Einverleibung nur langsam zu einem wirksamen Antiserum. Sie wird daher nur ausnahmsweise herangezogen. Versucht ist auch die Applikation per os und die Immunisierung durch den Darmkanal. Aber die Antigenaufnahme ist hier sehr gering, so daß diese Methode viel Zeit und Material beansprucht. Wahrscheinlich, weil (nach Hamburger) der Verdauungsapparat ein

Schutzorgan darstellt, das den Organismus vor dem Eindringen körper- und artfremder Substanzen schützt. Erst bei sehr großen Eiweißgaben, einer Überschwemmung mit dem Antigen, gelangt ein Teil desselben unverändert durch die Darmwand ins Blut infolge Insuffizienz des Verdauungstractus (A s c o l i). Die stomachale Immunisierung ist also ganz unsicher und schädigt das Tier.

Die Technik der intravenösen Injektion.

Das gewogene und gezeichnete Tier wird in einen Rahmen gespannt oder von einem Gehilfen zwischen den Knien oder auf dem Tisch zwischen den Armen so gehalten, daß unerwünschte Bewegungen ausgeschlossen sind. Der Leib mit Vorder- und Hinterbeinen wird zweckmäßig bis an den Hals eingewickelt. Der Gehilfe faßt ein Ohr mit beiden Daumen und Zeigefingern an der Wurzel und komprimiert hier die Ohrgefäße. An der Außenfläche des Ohres tritt dann bald die angeschwollene Randvene hervor. Durch Klopfen, Bestreichen mit erwärmtem Glasstab oder, nach B o r c h m a n n , Betupfen der Ohrwurzel mit einem Xylolbausch kann die Anschwellung beschleunigt werden (Lähmung der Gefäßmuskulatur). Von einer Rasur und Reinigung des Ohres kann abgesehen werden, es genügt Abtupfen mit einem Alkoholbausch, nachdem die Haare über der Vene ein wenig abgezupft sind. Man sticht dann die Kanüle, mit der die Spritze armiert ist, herzwärts in die Vene ein, indem man sich nach B o r c h m a n n dabei des kleinen Kunstgriffes bedient, das Ohrende über den linken Zeigefinger zu wölben und auf diesen hinzuzielen. Fühlt man den Widerstand des Fingers, so senkt man die Spritze und gleitet leicht mit der Kanüle in die Vene, ohne ihre gegenüberliegende Wand zu durchstoßen. Der weniger Geübte macht die Injektion am besten zunächst nahe der Ohrspitze, weil er dann etwaigen Bewegungen des Tieres während des Spritzens besser folgen kann. Mit langsamem gleichmäßigen Druck, so daß sich das Injektionsmaterial gleich mit dem Venenblutstrom mischt, injiziert man den Inhalt der Pravazschen Spritze, die dabei wieder mit samt dem Ohre senkrecht gehalten wird, um etwaige Luftblasen in der Spritze zurückzuhalten. Sobald die Injektion beginnt, hat der Gehilfe mit dem Druck auf die Ohrwurzel natürlich nachzulassen. Ist das Tier nicht

durch unpassende Manipulationen beunruhigt, ist das Injektionsmaterial erwärmt, und wird die Injektion langsam und gleichmäßig ausgeführt, so ist kein Chok zu befürchten. Faßt man das in der Vene steckende Nadelende zwischen linken Daumen und Zeigefinger und fixiert es auf diese Weise, so ist auch bei Bewegungen des Tieres ein Abirren der Kanüle während der Injektion nicht zu befürchten. Nach der Einspritzung wird die Einstichöffnung zwischen diesen beiden Fingern komprimiert und dann erst die Kanüle herausgezogen. So fließt kein Material zurück, und eine Blutung wird vermieden. Andernfalls muß das Gefäß umstochen werden. Kollodiumverschluß ist aus dem erwähnten Grunde nicht zu empfehlen.

Bei G e f l ü g e l wählt man eine der größeren am Schultergelenk verlaufenden Flügelvenen als Injektionsstelle.

Die Pravazspritze wird vor jeder Einspritzung ausgekocht (10 Minuten) und vor und nach dem Gebrauch mit steriler physiologischer NaCl-Lösung sorgfältig gereinigt und ausgespült.

Die Technik der intraperitonealen Injektion.

Der Gehilfe faßt das Kaninchen so mit beiden Händen an den Beinen (die rechte hält die Vorderbeine, die linke die Hinterbeine), daß der Kopf des Tieres nach abwärts hängt, die Bauchseite dem Operateur zugewandt ist. Die Därme fallen dann möglichst in die obere Hälfte der Bauchhöhle. In die Unterbauchgegend wird injiziert; bei weiblichen Tieren in der Mittellinie, um die empfindlichen Brustdrüsen zu vermeiden. Die Entfernung der Haare an der Injektionsstelle ist unnötig und nicht empfehlenswert, da sie gegen das Belecken der Injektionsstelle Schutz gewähren. Reinigung mit Alkohol- oder Ätherbausch genügt. Bei älteren Tieren muß man die Oberhaut durch einen kleinen Schnitt mit ausgeglühter erkalteter Hohlschere entfernen. Man erhebt dann diese Stelle mit zwei Fingern der linken Hand zu einer Falte, sticht die Pravazspritze mit ihrer s t u m p f e n Kanüle senkrecht auf der Höhe der Falte ein, bis der Widerstand der Bauchmuskulatur und des Bauchfells überwunden ist, und injiziert mit langsamem Druck. In jedem Falle muß man sich durch Palpation der Bauchhautfalte vergewissern, daß man keine Darmschlinge mitgefaßt hat.

Man kann auch die ganze Falte zunächst quer durchstechen und dann die Kanüle wieder zurückziehen, bis sich ihre Spitze in der Bauchhöhle befindet (W. A. S c h m i d t).

Auch hier läßt sich durch Erwärmen des Injektionsmaterials jeder Chok vermeiden. Die Tiere sind bald wieder munter und zum Fressen geneigt.

Die Technik der subkutanen Injektion.

Diese unterscheidet sich nicht von der allgemein üblichen. Man wählt dazu die Rückenhaut zwischen den Schulterblättern oder die Bauchhaut, die beide leicht in einer Falte aufzuheben sind. Die injizierte Masse wird durch sanfte Massage verteilt. Wegen der oft auch bei völlig sterilem Material beobachteten Infiltratbildungen ist diese Applikationsweise nicht zu empfehlen. Haben sich solche Beulen gebildet, so ist jedenfalls mit der nächsten Injektion zu warten, bis sie vergangen sind.

Über die Frage, durch welches Verfahren die schnellste und höchste Antikörperproduktion erzielt wird, herrscht noch nicht völlige Einigkeit. Die einen suchen durch rasch steigende große Dosen eine starke Reaktion zu erzielen. F o r n e t und M ü l l e r haben diese dadurch erreicht, daß sie innerhalb dreier Tage täglich je 5, 10 und 15 ccm intraperitoneal injizierten. Sie erhielten schon am zwölften Tage ein hochwertiges Antiserum. Die Nachprüfungen der U h l e n h u t h s c h e n Schule haben diese Angaben indes nicht bestätigen können.

Andere ziehen geringere Dosen in längeren regelmäßigen Abständen vor, so daß der Organismus des Tieres so wenig wie möglich leidet. Geht man mit den Injektionen zu weit, so ermüdet der Organismus und produziert keine Antikörper mehr; oder er wird — auch bei weiterer Antikörperbildung — überempfindlich, a n a p h y l a k t i s c h , so daß die folgenden Injektionen giftig wirken und das Tier töten. Es stirbt chokartig oder unter Krämpfen während oder nach einer weiteren Einspritzung.

Noch nicht geklärt ist, warum das Tier, welches in der Präzipitinbildung begriffen ist und nun weitere Injektionen präzipitabler Substanz erhält, nicht in höherem Maße mit Präzipitation in der Blutbahn darauf

reagiert, wo doch die Bindung der Präzipitine mit dem Eiweiß, die Präzipitatbildung, *in vitro* so prompt erfolgt. Daß eine Bindung dieser Substanzen in gewissem Maße auch im Tierkörper erfolgt, ist nach den Untersuchungen von v. D u n g e r n , H a m b u r g e r , O p p e n h e i m e r , R o s t o s k i , T ö b b e n zweifellos, der Fall. Der anfängliche Rückgang der präzipitierenden Kraft des Antiserums nach der erneuten Injektion spricht dafür. Daß sie nicht in höherem Grade stattfindet und schädigt, führt R o s t o s k i auf Hemmung der Präzipitatbildung durch die ziemlich starke alkalische Reaktion des Blutes, die starke Konzentration des Eiweißes im Blute (7 %), vielleicht auch auf ein an das Globulin gebundenes Antipräzipitin zurück.

Es ist für diese Frage von hoher praktischer Bedeutung, den Zeitpunkt kennen zu lernen, in welchem die Antikörperbildung ihr Maximum erreicht hat.

Die Antikörperbildung verläuft nach v. D u n g e r n unter typischer wellenförmiger Schwankung in 4 Phasen.

1. Phase: Etwa die ersten 4—6 Tage werden keine erheblichen Mengen Antikörper gebildet (Latenzperiode).

2. Phase: Die nächsten 2 Tage findet ein schnelles Ansteigen der Produktion statt. Am Ende dieser Phase ist die Höhe erreicht (Akme).

3. Phase: Es folgt dann eine längere Zeit des Gleichgewichts, um wieder

4. Phase: einem allmählichen Abfall Platz zu machen.

Etwas anders verläuft die Kurve bei Wiederimpfung. Hier findet nach der Reinjektion zunächst ein Sinken der Antikörperkonzentration statt, die am zweiten Tage ihr Maximum erreicht; kurze Zeit dauert die Latenzperiode; dann beginnt der neue Anstieg der Produktion, der am siebenten bis neunten Tag die Akme erreicht hat — die höher ist als nach der ersten Injektion — um von da an einige Zeit konstant zu bleiben und dann wieder abzufallen.

Auf Grund dieser Kenntnis des Verlaufs der Antikörperbildung spritzt man jeden sechsten bis siebenten Tag, also wöchentlich einmal, und zwar intravenös (und subkutan) jedesmal 1—3 ccm Serum oder etwa 1,0 ccm auf 1 kg Körpergewicht des Tieres; intraperitoneal kann man natürlich in jeder Sitzung größere Mengen Serums oder defibrinierten Blutes einverleiben. Im allgemeinen sollte aber die Einzeldosis 5 ccm auf 1 kg des Körpergewichtes des Tieres nicht übersteigen.

Die Zahl dieser wöchentlichen Einspritzungen hängt von der Fähigkeit des Tieres ab, Präzipitine zu bilden, und natürlich von dem Zustand des Tieres. Zeigen sich Krankheitserscheinungen, so sind die Injektionen auszusetzen. Dagegen ist Abmagerung des Tieres trotz guter Freßlust und reichlicher Fütterung keine Indikation gegen die weitere Vorbehandlung, da solche Tiere trotzdem zuweilen noch ein hochwertiges Antiserum liefern. Gewöhnlich beruht der Gewichtsverlust indes auf nicht ausreichender Fütterung oder mangelnder Freßlust (Hafer füttern!).

Da die Fähigkeit der Antikörperproduktion individuell erheblich schwankt, entnimmt man nach der dritten Injektion etwas Blut, um dessen Präzipitingehalt festzustellen. Und zwar erst dann, wenn das Tier den Höhepunkt, die Akme, der Antikörperbildung erreicht hat, d. i. also fr ü h e s t e n s e i n e W o c h e nach der letzten Einspritzung. Vor der Probeentnahme läßt man das Tier zunächst noch 24 Stunden hungern. Auf diese Weise hat man die Gewißheit, daß sich neben den Antikörpern keine Antigene mehr im Blute befinden, die Autopräzipitation in dem Antiserum veranlassen könnten, und andererseits werden Opaleszenz und Trübungen des Antiserums vermieden, die durch den Verdauungsprozeß verursacht werden, und die bei der Beurteilung der Eiweißfällung stören.

Die Technik der Probeentnahme.

Man entnimmt der zur Schwellung gebrachten (s. o.) Ohr- randvene durch Einstechen einer nicht zu engen Pravazkanüle etwa 3—5 ccm Blut, das man in ein steriles Reagenzglas tropfen läßt. Oder man wählt dazu die in der Mitte des Ohres verlaufende Arterie, aus der das Blut schneller fließt und weniger Hb-haltig ist. Durch abwechselnde Kompression der Ohrspitze und Ohrwurzel läßt sich feststellen, welches von den beiden hier verlaufenden Gefäßen die Arterie ist. Man spannt das Ohr über den Finger und schneidet mit senkrecht aufgesetzter steriler C o o p e r s c h e r Schere die Arterie quer und glatt durch und läßt das Blut frei in das sterile Röhrchen fließen. E i n A b - s t r e i c h e n m i t d e m R ö h r c h e n i s t z u v e r - m e i d e n. In wenigen Sekunden ist gewöhnlich die erforderliche Blutmenge erreicht. Fließt das Blut zu langsam, so ist durch Erwärmen oder Betupfen der Wurzel mit Xylolbausch die

Blutung anzuregen. Nach Schluß der kleinen Operation steht sie meist auf Druck mit dem Finger, andernfalls ist Umstechung nötig.

Bei Geflügel schneidet man eine Flügelarterie an.

Aus dem entnommenen Blut läßt man in dem schräg gestellten Röhrchen, nachdem etwa an der Glaswand haftende Blutgerinnsel mit dem sterilen Platindraht gelöst sind, das Serum bei Zimmertemperatur sich abcheiden. Hat das Tier vor der Probeblutentnahme 24 Stunden gehungert, so ist das Serum meist genügend klar und opalesziert nicht, so daß direkt zur Wertigkeitsprüfung geschritten werden kann.

Die Technik der Probeuntersuchung.

Von der Eiweißart, gegen welche das Antiserum gerichtet ist, am besten also von dem zur Einspritzung benutzten Serum, stellt man sich mittels physiologischer (0,85 proz.) NaCl-Lösung eine Verdünnungsreihe 1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 20 000 usw. her und füllt von diesen je 0,9 cem in kleine Reagenzröhrchen. Die NaCl-Lösung soll absolut klar sein. Am besten wird sie aus chemisch reinem NaCl hergestellt. Die aus gewöhnlichem NaCl bereitete muß stets durch Papierfilter filtriert werden.

Man pipettiert von dem abgeschiedenen Probeantiserum vorsichtig einige zehntel Kubikzentimeter ab und fügt je 0,1 cem, indem man es langsam an der Wandung des Röhrchens entlang laufen läßt (Röhrchen schräg halten), zu jeder der obigen Eiweißverdünnungen hinzu. Das Antiserum, als die spezifisch schwerere Flüssigkeit, senkt sich dabei zu Boden, unterschichtet also die Eiweißlösung. In diesem Falle wird man die charakteristische Eiweißfällung zuerst an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten in Form eines deutlich sich abhebenden weißen Ringes auftreten und von dort sich allmählich nach oben steigend verbreitern sehen, bis das ganze Röhrchen gleichmäßig getrübt ist. Fällt aber das Antiserum direkt auf die Eiweißlösung, sich mit ihr mischend und langsam zu Boden senkend, so kann man die charakteristische Ringtrübung nicht erwarten. Die Trübung verbreitet sich vielmehr von oben herab steigend unregelmäßig in der ganzen Lösung.

Prüft man in dieser Weise das Antiserum der gespritzten Tiere nach den ersten Injektionen durch und beobachtet, bis zu welcher Verdünnung es noch eine homologe Eiweißfällung auslöst, so findet man nicht selten, daß, auch bei gleicher Vorbehandlung und Wartung der Tiere, nur eines oder zwei derselben jetzt schon ein genügend hochwertiges, praktisch brauchbares Antiserum liefern (1 : 20000), während bei den andern eine Präzipitinbildung noch nicht festzustellen ist, oder sie ist nur erst angedeutet. Bei diesen Tieren setzen wir die Einspritzungen noch fort. Und zwar empfiehlt es sich, dies intraperitoneal zu tun, da die Tiere gegen die intravenöse Behandlung, wenn sie in der Präzipitinbildung begriffen sind, immer empfindlicher werden.

Nach der intraperitonealen Einverleibung erfolgt die Resorption langsamer, und demgemäß ist die Reaktion darauf keine so stürmische.

Bei manchen Tieren wird man sich allerdings, wie erwähnt, umsonst bemühen; sie bilden überhaupt keine Präzipitine; andere liefern, wenn man sie nach den ersten nutzlosen Einspritzungen einige Wochen liegen läßt, schließlich auf erneute Behandlung doch noch ein brauchbares Antiserum.

Auf zwei Punkte möchte ich noch besonders das Augenmerk richten.

Einmal habe ich mehrfach die Erfahrung gemacht, daß gerade nach der Probeentnahme, die ja mit einem geringen Blutverlust für das Tier verbunden ist, die Antikörperproduktion nach einer weiteren Injektion ganz erheblich steigt. In einem meiner Fälle war z. B. die Wertigkeit des Antiserums nach der dritten Injektion nur schwach $\frac{1}{1000}$. Nach der Probeentnahme von ca. 10 ccm Blut und einer weiteren intravenösen Injektion von 2,0 ccm desselben Serums war sie nach neun Tagen auf $\frac{1}{30000}$ gestiegen, und nach abermaliger Probeentnahme von ca. 10 ccm Blut und intraperitonealer Injektion von 5 ccm desselben Serums hatte sie am zehnten Tage den Titer $\frac{1}{100000}$, deutliche Ringbildung in 5 Minuten erreicht. Es ist gewiß weiterer Prüfung wert, ob sich die Wertigkeit des Antiserums auf diese Weise künstlich steigern läßt.

Sodann kommt es vor, daß, wie auch Uhlenhuth bestätigt und auf ein Erlahmen des Rezeptorenapparates zurück-

führt, das Antiserum, welches nach den ersten Einspritzungen schon eine gewisse Wertigkeit erreicht hatte, nach weiteren Einspritzungen, anstatt zu steigen, wieder mehr und mehr an Wertigkeit verliert. Ich habe diese Tatsache hauptsächlich dann konstatieren können, wenn zu den mehrfachen Einspritzungen nicht ein und dasselbe Antigen benutzt wurde, sondern homologes Serum oder Blut verschiedener Herkunft, aus verschiedenen Quellen. Das ist gewiß nicht so gleichgültig, wie es auf den ersten Blick zu sein scheint. Es ist anzunehmen, daß auch in homologen Antigenen individuelle Differenzen vorhanden sind, und daß die durch sie erzeugten spezifischen Antikörper nicht adäquat sind, daß sie, dem Körper einverleibt, einen Konkurrenzkampf beginnen der die Bildung der Antikörper ungünstig beeinflußt.

Eine ähnliche Beobachtung hat man ja bereits gemacht, wenn zwei verschiedene, nicht homologe Eiweißarten einverleibt wurden. Auch hier bildeten sich, obschon die Körperzellen gegen beide Arten zweifellos in gleichem Grade Gegenkörper zu bilden imstande sind, nicht oder wenigstens nicht im gleichen Maße gegen beide Arten spezifische Gegenkörper (B a r t h e).

Auch über diese Frage sind noch weitere Untersuchungen erwünscht. Ich bin bereits auf Grund dieser Beobachtung so vorgegangen, daß ich, wenn das Material aus ein und derselben Quelle, von einer Geburt, einem Aderlaß, einer Leiche, gering ist, lieber nach dem Vorgang von S c h u r und H a l b e r s t a m m seltene Einspritzungen in größeren Intervallen mache, als homologe Seren verschiedener Herkunft zu spritzen. Ich injiziere also 2,0 ccm intravenös und erst nach drei Wochen zum zweiten Male 2 ccm desselben Serums; meist ist jetzt schon nach 8 bis 10 Tagen eine genügende Wertigkeit erreicht, nach einer Probenentnahme und der dritten Injektion jedoch ziemlich sicher. In mehreren Fällen wurde auf diese Weise der Titer $1/20\,000$ nach der dritten oder vierten Einspritzung erreicht. Abgesehen von dem geringen Verbrauch an Injektionsmaterial gegen früher, wo 30—60, ja 80 ccm Blut bzw. Serum einverleibt wurden, leiden die Tiere natürlich viel weniger von den seltenen Einspritzungen als früher durch die gehäuften. Es sind daher fast gar keine Todesfälle mehr zu verzeichnen, und der P r o z e n t s a t z

der hochwertigsten Antisera liefernden Tiere ist ein beträchtlich höherer. Der größte Vorteil liegt jedoch darin, daß auch die Artspezifität der Antisera eine größere ist. Die Erfahrungen gingen ja schon längst dahin, daß, je länger und intensiver die Vorbehandlung, desto mehr ein Übergreifen des Antiserums auf heterologe Eiweißarten zu befürchten ist.

Die Gewinnung des Antiserums.

Sobald die gewünschte Wertigkeit des Antiserums erreicht ist, wird das Tier entblutet und das Serum gewonnen. Vorher läßt man es wieder 24 Stunden hungern. Die einfachste Methode, es an den Hinterbeinen aufzuhängen, durch Halsschnitt die Karotiden zu durchtrennen und das herausströmende Blut in sterilen, möglichst weiten Meßzylindern, die mit Trichtern armiert sind, aufzufangen, ist nicht sehr empfehlenswert, weil nicht verhütet werden kann, daß der Schlund mitgeöffnet wird, und weil also die Sterilität des Blutes, auch wenn die Halsgegend mit Sublimatalkohol gereinigt und der Schnitt mit ausgeglühtem Messer gemacht wurde, nicht gesichert ist.

Besser ist, nach dem Vorgang Uhlenthuths, das Tier in die Brusthöhle zu entbluten, das Blut mittels steriler Pipette mit weiter Öffnung (um Verstopfung zu vermeiden) und 50 ccm fassendem Lumen abzusaugen. Zu diesem Zwecke entfernt man das Brustbein oder legt in der Gegend des Herzens in die Rippen nach Abpräparation der Haut ein Fenster an, wobei das in Rückenlage auf den Tierrahmen gespannte Tier tief chloroformiert sein muß (Pupillen kontrollieren!). Nach steriler Eröffnung des Herzbeutels wird das Herz mit steriler Hakenpinzette gefaßt, seine Spitze horizontal weggeschnitten und dann schnell das sich aus beiden Kammern entleerende Blut herauspipettiert. Da sich die Lunge bei dem Ansaugen störend in den Weg legt, wird sie, wenigstens die linke Hälfte, am besten vor dem Herzschnitt herausgenommen.

Ziemke hat vorgeschlagen, dem aufgebundenen und chloroformierten Tier mit einem Scherenschlag seitlich am Halse einen Streifen Haut wegzunehmen, so daß man sich mit steriler Pinzette und Schere die unter der Muskulatur liegende Carotis externa freilegen kann. Die Ader wird peripher abge-

bunden, in der Richtung nach dem Herzen eine starke sterile Pravazkanüle in sie eingestoßen und mit einer kleinen Sperrpinzette fixiert. Das durch die Kanüle herausströmende Blut wird in sterilem Gefäß unter Druck auf den Thorax und das Abdomen des Tieres aufgefangen. Statt der Pravazkanüle kann man sich auch eines zu einer Kapillare ausgezogenen, stumpfwinklig gebogenen 25 cm langen, 16 mm breiten Glasrohrs bedienen. Die in das Blutgefäß eingestoßene Kapillare wird mit einer vorher bereitgelegten Seidenligatur befestigt. Das andere Ende des Glasrohres taucht in das Meßglas.

V a n h o g h e m schlägt vor, nicht die Glaskanüle in die Karotis zu stecken, sondern diese mittels eines Fadens in die Kanüle hineinzuziehen.

Auch diese Art der Blutentnahme sichert die Sterilität.

Durch die geschilderten Entblutungsarten erhält man ziemlich die ganze Blutmenge des Tieres, die durchschnittlich 80 ccm beträgt, und die etwa halb so viel Serum gibt. Da von dieser ein relativ nicht unbeträchtlicher Teil für die später noch zu besprechende sorgfältigere Wertigkeits- und Spezifitätsbestimmung verwendet werden muß, so bleibt ein im Verhältnis zu den Mühen und Kosten der Herstellung nur kleiner Teil zum eigentlichen forensischen Gebrauch übrig. Ich nehme daher die Entblutung nicht in einmaliger, sondern in mehreren Sitzungen innerhalb weniger Tage vor und erziele dadurch eine erhebliche Vermehrung der Blut- bzw. Antiserummenge.

Ich lasse einen derartigen Versuch folgen:

Kaninchen 96 (3250 g) erhält am 23. XI. und 15. XII. 08 je 2,0 ccm desselben Menschenserums intravenös. Sein Serum hat am 24. XII. eine Wertigkeit von $1/1000$, sofort Trübung. Es erhält nach der Probeblutentnahme wieder 2,0 ccm desselben Menschenserums intravenös. Am 2. I. 09 ist der Titer des Antiserums $1/20000$, sofort dichter Niederschlag. $1/50000$ in 5 Minuten schwache Trübung. Es werden nach 24stündigem Hungern aus der Ohrarterie 50 ccm Blut entnommen, die 30 ccm Antiserum gaben. — Das Tier erhält 24 Stunden reichlich Futter, hungert 24 Stunden, dann werden ihm wieder 40 ccm Blut aus der Ohrarterie entzogen, am 4. I. 09. Der Titer des Antiserums ist derselbe geblieben. Es werden 20 ccm Antiserum erhalten. Nach weiteren 24 Stunden Fütterns und 24stündigem Hungern wird das Tier vollständig entblutet und dabei noch reichlich 70 ccm Blut bzw. 40 ccm Antiserum von demselben Titer gewonnen.

In einem anderen Falle (Kan. 97) erhielt das Tier am 27. XI., am 15. XII. und, da der Titer noch nicht $1/1000$ erreicht hatte, am 24. XII. und am 4. I. je 2,0 ccm desselben Menschenserums. Die Prüfung am 15. I. ergab den Titer $1/10000$ sofort dicht, $1/50000$ in 5 Minuten deutlich, $1/100000$ in 10 Minuten noch schwach. — Es wurden in Zwischenräumen von je 2 Tagen 60 ccm, 50 ccm und 30 ccm Blut entnommen, die etwa 80 ccm Antiserum von demselben Titer gaben. Bei der 4. Blutentnahme am 20. I. war jedoch der Titer plötzlich ganz erheblich gesunken. Es wurde nur noch eine Wertigkeit von $1/1000$ sofort schwach gefunden.

Diese fraktionierte Blutentnahme, die das Tier natürlich schließlich sehr schwächt, hat also ihre Grenzen; und diese Beobachtung stimmt vollständig mit der von Barthé-Bordeaux überein, dessen Untersuchungen ergaben, daß die Kaninchen bis 15 Tage nach der letzten Einspritzung präzipitierendes Serum gaben, daß am Ende des 20. Tages jedoch keine Reaktion mehr erhalten wurde.

Die Entnahme ist also zwischen dem 8. und 15. Tage nach der letzten Injektion auszuführen; jedenfalls vor dem 15. Tage durch Entblutung zu beenden.

Zur Abscheidung des Serums läßt man das Blut einige Stunden bei Zimmertemperatur (oder bei 37° im Brutschrank) und dann über Nacht im Eisschrank stehen, eventuell kann man den sich senkenden Blutkuchen noch mit einem sterilen Gewicht beschweren. Je weiter das Gefäß, einen je breiteren Raum also das Blut einnimmt, desto mehr Serum preßt es aus. Man nimmt daher einen möglichst weiten Meßzylinder zum Auffangen des Blutes, den man zur Abscheidung des Serums schräg stellt, oder besser — wie Nuttall — weite große Petrischalen.

Nach vollendeter Abscheidung wird das gewonnene Antiserum in sterile Zentrifugengläser vom Blutkuchen völlig abgossen, von den noch darin befindlichen Blutkörperchen durch starkes Zentrifugieren befreit und vom Bodensatz mit steriler Pipette vorsichtig in ein steriles Glas abgehoben.

Geht man so vor, vermeidet man vor allem jede unnötige Berührung des Blutkuchens, so erhält man ein fast farbloses, höchstens schwach gelblich schimmerndes klardurchsichtiges Serum, welches alle die für den forensischen Gebrauch unentbehrlichen Eigenschaften besitzt, die jetzt eingehender besprochen werden sollen.

Soll das Antiserum gebrauchsfähig sein, muß es folgende Eigenschaften haben:

1. Es muß absolut klar und steril sein; es darf vor allem nicht opaleszieren.
2. Es muß hochwertig, hochwirksam sein und prompt reagieren.
3. Es muß streng artspezifisch sein.

Jedes Antiserum muß also auf diese drei unumgänglich notwendigen Eigenschaften vor dem Gebrauch sorgfältig geprüft werden.

Ad 1. Die Klärung und Sterilisation des Antiserums.

Die Klärung würde man schon durch Filtration des Antiserums durch ein mit physiologischer NaCl-Lösung befeuchtetes Papierfilter erreichen. Soll das Antiserum sofort benutzt werden, so genügt diese. Da indes ein zur Aufbewahrung bestimmtes Antiserum auch völlig steril sein muß, filtriert man es am besten durch eine 1½—2 Stunden in strömendem Wasserdampf sterilisierte *Berkefeldt*sche Kieselgurkerze ((Liliput).

Es empfiehlt sich, zu jeder Filtration eines Antiserums eine neue Kerze zu nehmen und durch diese nach der Sterilisation, die übrigens auch durch Auskochen in destilliertem Wasser geschehen kann, zuerst so lange sterile physiologische NaCl-Lösung mit der Wassersaugpumpe durchzusaugen, bis die Kochsalzlösung klar abfließt. Dann erst kann man die Filtration des Antiserums direkt anschließen.

Es ist bereits eine ganze Reihe z. T. komplizierter Filtrierapparate mit geringen Abweichungen vorgeschlagen worden, die ihren Zweck mehr oder weniger gut erfüllen. Selbst auf die Gefahr hin, als rückständig zu gelten, muß ich sagen, daß ich mit dem nebenstehenden einfachen Apparat (Fig. 21), an dem ich nur wenige Änderungen vorgenommen habe, am besten angekommen bin. Das Wesentliche ist, daß die Wassersaugpumpe nicht gleichzeitig mit dem Serum Luft ansaugt, abgesehen von der durch das Filter gehenden, daß die ineinander gesetzten Teile des Apparates luft- und keimdicht schließen. Das läßt sich mit dem nebenstehenden durchaus erreichen, wenn nur in geeigneter Weise Scheibchen aus solchem Gummi eingelegt werden, der die Sterilisation in strömendem Wasserdampf verträgt. Die mit dem Glaszylinder armierte *Berkefeldt*kerze (Fig. 20) steckt mittels eines durchbohrten Gummistopfens luftdicht in der Saugflasche. Deren seitliche

Öffnung ist durch einen Gummischlauch mit der als Rückschlagventil dienenden Flasche und letztere wieder durch einen Gummischlauch mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. An dem letztgenannten Gummischlauch befindet sich ein Ventil mit Quetschhahn. Der ganze Apparat, abgesehen von den Gummischläuchen, wird in strömendem Wasserdampf 1—2 Stunden sterilisiert. Soll die Filtration vor sich gehen, so wird zunächst ein im Hitzeschränk sterilisiertes Reagenzglas in die Saugflasche gestellt. Damit es bequem wieder herausgezogen werden kann, wird ein Fadenzügel an ihm befestigt. Dann werden der Reihe nach die Stahlschraube fest angezogen, so daß die Kerze luftdicht in dem sie umhüllenden Glaszylinder sitzt, der Gummistopfen fest in die Saugflasche gedrückt, die Gummischläuche an Saugflasche und Rückschlagflasche befestigt und das Ventil zunächst geöffnet. Nach Ingangsetzung der Saugpumpe wird der Kerzenzylinder mit einer geringen Menge, einigen ccm, steriler physiologischer Kochsalzlösung beschickt, so daß die Kerze völlig bedeckt ist, und nun das Ventil geschlossen. Beim Abfiltrieren der Kochsalzlösung überzeugt man sich, daß nirgendwo Luftblasen erscheinen, der Apparat also luftdicht schließt, und daß die Kochsalzlösung klar filtriert erscheint. Um sie bis auf den letzten Tropfen durch das Filter zu schicken, stülpt man ein steriles Reagenzröhrchen über die Kerze; durch den Zug der Saugpumpe strebt auch die am Boden um den Stahlmantel der Kerze befindliche Kochsalzlösung an der Wandung des Röhrchens in die Höhe und wird durch das Filter vollständig abgesogen. — Nunmehr wird das Ventil wieder vorsichtig geöffnet, die Saugpumpe abgestellt, das mit der Kochsalzlösung gefüllte Röhrchen in der Saugflasche gegen ein neues weites steriles Reagenzglas ausgewechselt und der Gummistopfen wieder fest in die Saugflasche gedrückt. Nach Beschickung des Kerzenzylinders mit dem zu filtrierenden Antiserum wird die Saugpumpe wieder in Gang gesetzt, das Ventil geschlossen, und die Filtration des Antiserums geht vor sich. Auch dieses kann durch ein über die Kerze gestülptes Reagenzröhrchen bis auf den letzten Tropfen abgesaugt werden.

Die Saugkraft der Wasserstrahlpumpe wird nach einem an ihr angebrachten Manometer in gewünschter Weise reguliert; der Luftdruck in der Saugflasche noch außerdem dadurch, daß das Ventil mehr oder weniger geöffnet oder geschlossen wird. Eine zwischen den beiden Flaschen an-

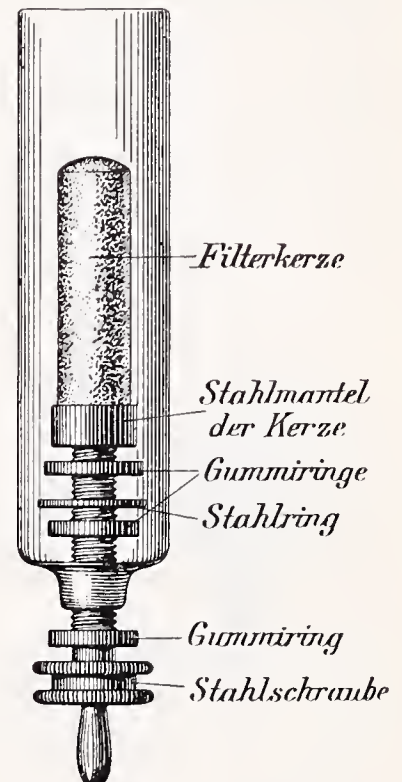


Fig. 20.

gebrachte Schraubenklemme schützt überdies die Saugflasche vor Rückschlägen beim Schließen der Wasserstrahlpumpe.

Die Filtration ist so zu regulieren, daß etwa alle 5 Sekunden ein Tropfen fällt; wird schneller abgesaugt, so ist ein Durchtreten von Keimen durch das Filter nicht ausgeschlossen.

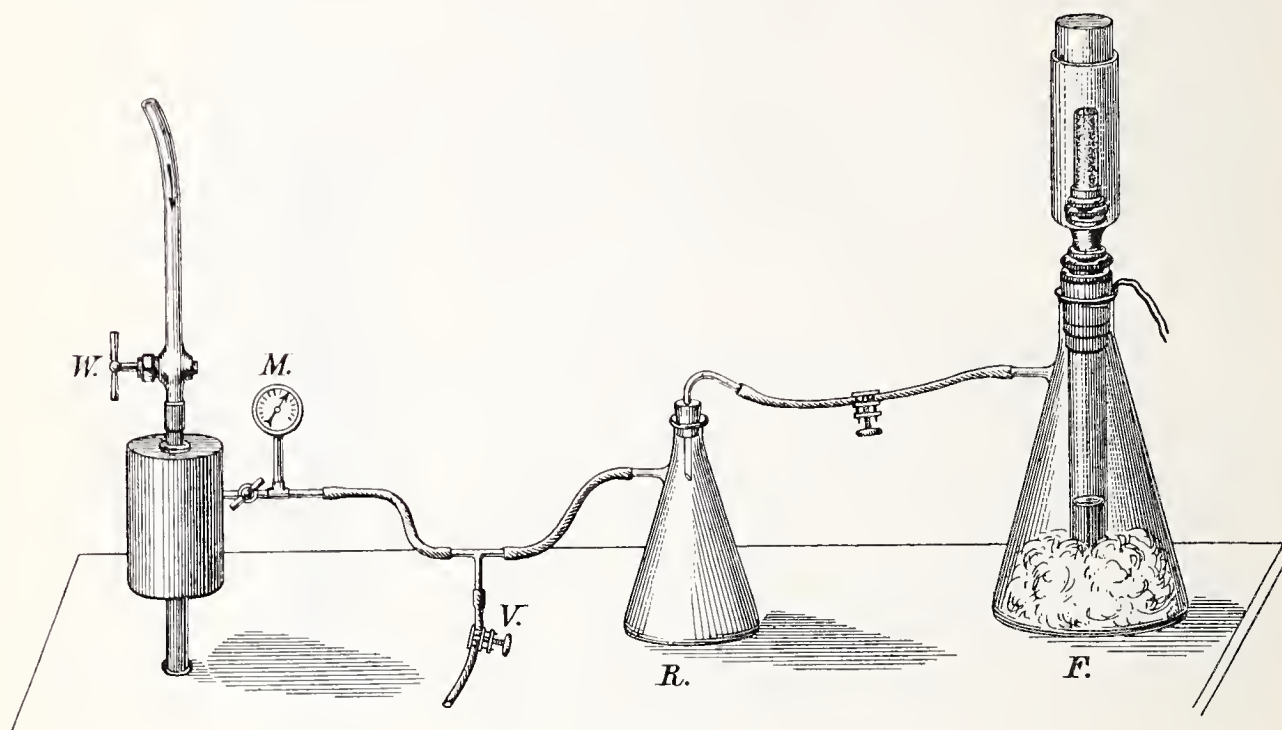


Fig. 21.

Filtrierapparat. *W* Wasserstrahlpumpe. *M* Manometer. *V* Ventil mit Schraubenquetschhahn. *R* Rückschlagflasche. *F* Saug- (Filtrier-) Flasche mit Berkefeldfilter.

Der Apparat vereinigt Einfachheit, Billigkeit und Sicherheit. In mehrjährigem Gebrauch hat er sich bewährt, und das auf diese Weise abgefüllte Antiserum ist monate- und jahrelang steril geblieben.

Die Armierung der Kerze läßt sich übrigens auch mit gutem Erfolg auf den von Weidanz modifizierten kleinen Maassenschen Apparat aufsetzen. Denn die über die kleine Silberschmidtkerze gezogene Gummikappe weitet sich schon bei der ersten Sterilisation so, daß sie Falten wirft und nicht mehr luftdicht schließt.

Um zu prüfen, ob das filtrierte Antiserum steril ist, kann man es in dem Reagenzglas, mit einem sterilen Becherglas bedeckt, einige Tage bei Zimmertemperatur stehen lassen, ehe man es in die zur Aufbewahrung geeigneten Röhrchen endgültig einfüllt. Ich habe immer ohne Verluste darauf verzichtet und die Einfüllung sofort vorgenommen. Ist man aber der sterilen Filtration nicht sicher, so ist es besser, abzuwarten, ob eine Trübung des Antiserums eintritt, und in diesem Falle die Filtration zu wieder-

holen. Für das Antiserum ist dies natürlich kein Vorteil, weil es, abgesehen von dem Materialverlust, durch jede Filtration an Wertigkeit einbüßt.

Nach beendeter Filtration wird der Glaszylinder sofort mit physiologischer NaCl ausgewaschen und die Kerze durch umgekehrte Filtration mit physiologischer NaCl-Lösung gereinigt. Der Glaszylinder wird umgestülpt auf den Gummistopfen der Saugflasche gesetzt, das Stahlrohr der Kerze durch einen Gummischlauch mit einem Glastrichter versehen, der die NaCl-Lösung aufnimmt, und dieser Apparat wieder an die Wassersaugpumpe angeschlossen.

Opaleszenz des Antiserums.

Einer der störendsten Fehler, die das Antiserum, nachdem es steril filtriert ist, jetzt noch haben kann, ist eine Opaleszenz, ein zarter milchiger Hauch, der gewöhnlich erst auffällt, wenn man es gegen das Licht hält.

Ein solches Antiserum ist leider für die forensische Praxis durchaus unbrauchbar und unter keinen Umständen zu verwenden. Wenn man ein derartiges Antiserum zu einer Eiweißlösung setzt, auch zu einer heterologen, so entsteht eine Trübung, die also leicht eine spezifische Reaktion vortäuschen kann. Daß die Trübung auf die Opaleszenz des Antiserums zurückzuführen ist, erkennt man daraus, daß sie auch entsteht, wenn man es zu einer völlig klaren physiologischen Kochsalzlösung zufügt. Ganz ähnlich wie das echte spezifische Präzipitat setzt sich auch diese Trübung nach einiger Zeit als Bodensatz ab. Diese unangenehme Eigenschaft des Antiserums, die durch keine Filtration zu entfernen ist, ist nur dadurch zu vermeiden, daß man das Tier vor der Entblutung 24 Stunden hungern läßt, das Blut also nicht während des Verdauungsprozesses entnimmt.

Autopräzipitation des Antiserums.

Die andere Eigenschaft des Antiserums, bei längerer Aufbewahrung eine geringe Eiweißausfällung (Autopräzipitation) zu zeigen, die einen am Boden des Röhrchens sich sammelnden feinen Niederschlag bildet, ist nicht ganz so störend wie die eben erwähnte Opaleszenz. Immerhin beeinträchtigt auch sie etwas die Wirksamkeit des Antiserums, und wenn infolge der Mani-

pulation mit dem Röhrchen der Bodensatz aufgerüttelt ist, bedarf es natürlich vor dem Gebrauch der Klärung durch Absitzenlassen oder Zentrifugieren sowie einer neuen Wertigkeitsbestimmung des Antiserums.

Über die Verhütung der Autopräzipitation siehe S. 115.

Ad 2. Die Bestimmung der Wertigkeit (des Titers).

Unter der Wertigkeit eines Antiserums versteht man seine prompte Wirksamkeit. Je hochwertiger es ist, desto schneller und intensiver tritt auf Zusatz desselben zu artgleicher Eiweißlösung die charakteristische Trübung auf.

Die oberflächliche Bestimmung des Titers ist bereits vor der Entblutung des Tieres erfolgt; sie soll jetzt exakter geschehen, zumal durch die inzwischen erfolgte Behandlung des Antiserums naturgemäß ein geringer Verlust an präzipitierender Wirkung zu erwarten ist.

Für die Wertigkeitsbestimmung kommen reine farblose Serumverdünnungen oder aus in abgemessener Menge ange-trocknetem Blut bereitete Extrakte oder endlich frische blutkörperchenhaltige Blutlösungen in Frage.

Da sich in Blutverdünnungen die entstehende Trübung wegen der Rotfärbung der Lösung weniger abhebt als in farblosen Serumverdünnungen, so sind letztere zur Bestimmung der Wertigkeit vorzuziehen. Überdies sind in frischen blutkörperhaltigen Lösungen weniger fällbare Substanzen vorhanden als in reinem Serum, da die Blutkörperchen etwa ein Drittel des Blutvolumens ausmachen; die Reaktion ist daher in jenen nach den Untersuchungen von A. S c h u l z schwächer und langsamer. Ob außerdem die Anwesenheit von Blutfarbstoff einen hemmenden Einfluß auf die Reaktion ausübt, wie H a u s e r annimmt, ist noch nicht sicher erwiesen. Der z e i t l i c h e Ablauf der Reaktion erfolgt nach A. S c h u l z in blutfarbstoffhaltigem Serum ebenso schnell wie in farblosem Serum.

Um die Wertigkeit, die Stärke des Antiserums gegen seine spezifische präzipitable Substanz festzustellen, sind verschiedene Methoden angegeben worden.

W a s s e r m a n n - S c h ü t z e empfehlen, die im Antiserum vorhandenen spezifischen P r ä z i p i t i e r u n g s - e i n h e i t e n festzustellen. Als Normaleinheit sehen sie die

kleinste Menge Antiserum an, die mit einer konstanten Menge Antigen nach einstündigem Aufenthalt bei 37° gerade noch flockige Fällung gibt. Für 5,0 ccm einer Blutlösung, die aus 0,1 ccm defibriniertem, angetrocknetem Blut + 5,0 ccm physiologischer Na Cl-Lösung bereitet ist, soll diese Normaleinheit 1,0 ccm des Antiserums sein. Gibt also schon 0,5 ccm Flockung, so hat das Antiserum doppelte Präzipitierungeinheiten und sein Zusatz, muß bei Ausführung der biologischen Probe auf die Normaleinheit beschränkt werden. Um das Antiserum auszutitrieren, versetzen sie die Testlösungen (je 0,1 defibrinierten angetrockneten Blutes in 5 ccm physiologischer NaCl-Lösung gelöst) mit absteigenden Mengen des Antiserums: etwa 1,0 ccm, 0,75 ccm, 0,5 ccm, 0,25 ccm, 0,1 ccm und stellen fest, welche kleinste Menge — nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank — noch Flockung gibt. Ist dies mit 0,5 der Fall, so hat das Antiserum doppelte, bei 0,1 zehnfache Präzipitierungeinheiten.

L. M i c h a e l i s benutzt zur Wertmessung die Tatsache, daß Präzipitin und präzipitable Substanz nur bei bestimmtem Mengenverhältnis einen Niederschlag geben, ein Überschuß an präzipitabler Substanz die Niederschlagsbildung verhindert bzw. die gebildete wieder löst. Er fügt zu einer konstanten und relativ großen Menge des Antigens kleine, steigende Mengen Präzipitin, bis es zu einer deutlichen Ausflockung kommt. Dann ist das Maß für die Stärke des Präzipitins der Bruch, der als Zähler die Menge der präzipitablen Substanz, als Nenner die Menge des Präzipitins in ccm enthält.

I d e, N u t t a l und K r a u s sowie H a m b u r g e r haben vorgeschlagen, die Stärke des Antiserums an der Quantität des in einer bestimmten Menge präzipitabler Substanz erzeugten Niederschlags zu messen. Die exakteste Messung, die Wägung, scheitert leider an den äußerst geringen Mengen des Präzipitats. Sie berechnen daher die Menge desselben aus seiner Höhe und dem Lumen des Zentrifugenröhrchens, in welchem die Reaktion angestellt und der Niederschlag nach 24 Stunden — eine bestimmte Zeit lang oder bis zum konstanten Volumen — abzentrifugiert wird. Die Höhe desselben wird an der Skala des graduierten Röhrchens mit der Lupe oder mit einem besonderen Meßapparat abgelesen. Man macht allerdings die Erfahrung, daß die Absetzung des Niederschlages auch bei längerem und starkem

Zentrifugieren nicht gleichmäßig erfolgt und abhängig ist von der lockeren oder festeren Konsistenz des Präzipitates.

Während hier die Wertmessung an das Ende der Reaktion gelegt ist, haben U h l e n h u t h und B e u m e r vorgeschlagen, sie an den Anfang derselben zu verlegen, d. h., anstatt die Menge des 24stündigen Niedersehlags zu messen, d a s e r s t e A u f t r e t e n der Trübung nach dem Zusatz des Antiserums nach Zeit und Stärke festzulegen. Und diese Methode, die ich in praxi für die empfehlenswerteste halte, wollen wir bei der Wertbestimmung unseres Antiserums wählen. Sie hat den Vorteil, daß sie auch den weiteren Reaktionsablauf in allen seinen Stadien bis ans Ende, bis zur Absetzung des Niederschlags, verfolgen läßt, also den vollkommensten Überblick über die homologe und heterologe Wirkung des Antiserums für wechselnde Konzentrationsgrade des Antigens gewährt.

Man legt aus dem Eiweiß, gegen welches das Antiserum gerichtet ist, am besten also wieder aus dem zur Einspritzung benützten Serum, mit 0,85 proz. Kochsalzlösung eine Verdünnungsreihe an, welche mit der Verdünnung 1 : 1000, die ja maßgebend sein soll, beginnt. Also 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000 und so weiter.

Von diesen Lösungen füllt man je 0,9 ccm in kleine, in einem geeigneten Gestell stehende Reagenzröhrchen und fügt schnell und ohne Unterbrechung zu jedem Röhrchen 0,1 ccm des zu prüfenden Antiserums am Glase entlang zu. Mit der Uhr in der Hand beobachtet man jetzt das Auftreten von Trübungen in den Röhrchen, und zwar bei auffallendem Licht, indem man zweckmäßig zwischen Lichtquelle und Reagenzgläschen eine schwarze Tafel hält, wodurch das seitlich auffallende Licht abgeblendet wird und die Trübungen sich besser abheben.

In der Verdünnung 1 : 1000 muß s o f o r t, spätestens nach 5 Minuten eine deutliche, zunächst hauchartige Trübung an der Berührungszone zwischen Serum und Antiserum aufgetreten sein. Innerhalb weiterer 5 Minuten soll sich die hauchartige Trübung in eine mehr wolkige verwandelt haben und nach weiteren 10 Minuten sich diese als ein flockiger Bodensatz absetzen. Die Zeiten, innerhalb deren die verschiedenartigen Trübungen eintreten, werden notiert, ebenso die Zeiten, in welchen sich die folgenden Verdünnungen noch trüben. Die Stärke der Reaktion wird dabei

nach der folgenden Skala beurteilt: S c h w a c h e h a u c h - a r t i g e T r ü b u n g — d i c h t e w o l k i g e T r ü b u n g — F l o c k e n b i l d u n g (Beginn der Absetzung).

Nach spätestens 20 Minuten wird die Beobachtung der Reihe abgeschlossen. Das Prüfungsergebnis wird mit dem Datum der Untersuchung dem aufzubewahrenden Serum angefügt.

Ein forensisch taugliches Antiserum muß wenigstens den Titer 1 : 20 000 bis 1 : 30 000 haben, d. h. es muß noch in einer so hohen Serumverdünnung binnen 5 Minuten bei Zimmertemperatur eine beginnende Trübung herbeiführen.

Zur Untersuchung soll stets nur der Inhalt eines Röhrchens, nicht dagegen eine Mischung mehrerer Röhrchen verwendet werden, da nach O b e r m e y e r und P i c k und W. A. S c h m i d t Antisera, die von verschiedenen Kaninchen stammten, zusammengemischt, Präzipitate gaben. Man führt dies darauf zurück, daß sich in den Antiseren, wenn die Kaninchen z u f r ü h entblutet werden, noch freies Antigen befindet, welches von den Antikörpern eines anderen homologen Antiserums gefällt wird.

Ad 3. Die Bestimmung der Artspezifität.

Diese überaus wichtige Prüfung ist bisher auffallenderweise wenig berücksichtigt worden, und doch kann ihre Unterlassung in der forensischen Praxis zu den schwersten Irrtümern führen.

Manche, und besonders hochwertige, präzipitinreiche Antisera vermögen auch in heterologen Blutarten, wenn auch langsamer und schwächer, Eiweißausfällung hervorzurufen, zumal wenn die heterologe Eiweißlösung konzentriert ist.

Daher ist nicht nur der zeitliche Ablauf der Reaktion und der Verdünnungsgrad der homologen Eiweißlösung zu limitieren, wie wir das bei der Wertigkeitsbestimmung getan haben, sondern es ist auch die Artspezifität des Antiserums unbedingt genauer festzustellen. Es darf in keiner anderen Eiweißlösung von der Verdünnung 1 : 1000 als der artgleichen zum mindesten nach 5 Minuten eine deutliche Trübung geben.

Zu diesem Zweck legt man wieder eine Versuchsreihe der verschiedensten heterologen Eiweißlösungen an, alle von der Verdünnung 1 : 1000. Ist unser Antiserum auf Menschenblut eingestellt, so werden dies Tierblutlösungen sein müssen. In das erste Röhrchen kommt wieder 0,9 ccm homologes, also von

dem zur Bereitung des Antiscrums benützten Serum in der Verdünnung 1 : 1000. In das zweite 1,0 ccm Antiserum allein zur Prüfung auf dessen absolute Klarheit und mangelnde Opaleszenz; in das dritte 0,9 ccm physiologische Kochsalzlösung. Diese Kontrolle ist besonders wichtig, weil ihr Klarbleiben auf Zusatz des Antiserums beweist, daß dasselbe nicht opalesziert, und daß andererseits die Kochsalzlösung nicht an und für sich mit dem Serum sich trübt, wie dies z. B. destilliertes Wasser tun würde. In das vierte kommt 0,9 ccm Serum der zur Einspritzung benützten Tierart und in die folgenden Röhrchen endlich je 0,9 ccm der verschiedenen heterologen Tierblutlösungen in der Verdünnung 1 : 1000. Je mehr, desto besser. Dann erfolgt der Zusatz von 0,1 ccm Antiserum zu allen Röhrchen mit Ausnahme des zweiten.

Sämtliche Röhrchen, abgesehen von dem ersten, in welchen sich eine dichte Trübung entwickelt, müssen absolut klar bleiben. Auch nach 20 Minuten darf sich in keinem derselben eine Trübung bemerkbar machen. Ein Antiserum, welches auf mehrere Tierblutarten in erheblichem Maße übergreift, ist für die forensische Praxis unbrauchbar.

Es ist selbstverständlich, daß alle Kontrollösungen völlig klar filtriert sein müssen.

Über die Herstellung der Tiereiweißverdünnungen ist folgendes zu sagen: Kann man dazu Normalseren nehmen und diese mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen, so ist dies jedenfalls am günstigsten. Denn man wird dann am genauesten die der homologen Eiweißverdünnung entsprechenden Eiweißverdünnungen 1 : 1000 treffen.

Aber so viele verschiedenartige Tierseren, wie wir zu einer gewissenhaften Prüfung der Artspezifität benötigen, sind nicht immer zur Verfügung; sie sind ja auch schwer längere Zeit zu konservieren. Sie frisch zu beschaffen, würde viele Umstände und Kosten verursachen. Wir sind also darauf angewiesen, die heterologen Kontrollösungen aus getrocknetem Blut herzustellen, und dabei ist eine genaue Dosierung ganz unmöglich. Wir können nur sagen, daß wir erfahrungsgemäß annähernd eine Blutverdünnung 1 : 1000 haben, wenn der Extrakt, den wir mit physiologischer Kochsalzlösung aus dem trocknen Blut ausgezogen haben, bei durchfallendem Licht ganz schwach gelblich gefärbt ist, stark

geschüttelt einige Zeit hindurch Schaumbildung zeigt und, gekocht und mit Salpetersäure versetzt, sich leicht trübt und nach einigen Minuten einen ganz geringen Niederschlag gibt. —

Eine Möglichkeit, sich konstante Blutlösungen für die Kontrollreaktionen zu verschaffen und für alle Zeiten zur Verfügung zu haben, besteht aber noch darin, daß man frisches Tierblut oder Tierserum in abgemessener Menge auf Filtrierpapier tropft und antrocknen läßt. Man kann die Flecken ausschneiden und im Dunkeln trocken aufbewahren und hat damit jederzeit in der Hand, sich eine Blutlösung von bestimmtem Gehalt zu bereiten.

Zum Auftropfen des Blutes bedient man sich einer kleinen Kapillarpipette, die auf 0,05 ccm graduiert ist. Tropft man hiermit je 0,05 ccm Blut auf das Papier, so gibt dieser Flecken, in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, eine Blutlösung 1 : 1000. Man stellt sie her, indem man ein Glasröhrchen von 5 mm Durchmesser über der Gebläseflamme auszieht, dann mittels einer graduierten Pipette 0,05 ccm Kochsalzlösung in ein Uhrschildchen bringt, die Flüssigkeit mit der Kapillarpipette vollständig aufsaugt und ihren Stand Fig. 22. mit Glastinte an der Pipette bezeichnet. (Fig. 22.)



In manchen Fällen ist auch die Organspezifität genauer zu prüfen; z. B. dann, wenn ein Blutfleck forensisch untersucht werden soll, der mit anderem Organeiweiß (Sputum, Sperma, Nasenschleim) vermischt ist.

Die Konservierung des Antiserums.

Hat das Antiserum die Prüfung bestanden, ist es völlig klar, steril, opalesziert nicht, ist hochwertig, artspezifisch, so kann es für die forensischen Untersuchungen aufbewahrt, für einen eventuellen Versand zurückgestellt werden.

Es wird in kleinen Mengen in Glasbehälter eingefüllt, die über dem Bunsenbrenner zugeschmolzen und an einem vor Licht und Wärme geschützten kühlen Ort — der Eisschrank empfiehlt sich dazu nicht, weil es hier zu Salzausfällungen kommt — aufbewahrt werden.

Uhlenhuth benutzt Röhrchen von 12,5 cm Länge und 0,7 cm Durchmesser aus leicht schmelzbarem braunen Glas, die er mit 1—2 ccm Serum füllt. (Fig. 23.)

Andere (Nuttall, Fische, Ziemke, Schulz) bedienen sich aufgeblasener Kapillaren, die auch als Jenenser Röhrchen im Handel sind. In diese wird das Serum eingesaugt. Das ist um so schwieriger, je geringer die Ausbuchtung der Kapillare ist, und je kürzer diese ist.

Ich verwende daher Glaskapillaren von 15 cm Länge, deren Mitte kugelig aufgetrieben ist und etwa 1 ccm faßt. (Fig. 24.) Der eine Schenkel der Kapillare



Fig. 23.

wird mit einem sterilen dünnen Gummischlauch mit Mundstück bewaffnet und nun durch den anderen Schenkel das Antiserum bis zur halben Fällung der Kugel aus einem sterilen Becherglas eingesogen. Diese Kugelkapillaren haben den Vorteil, daß ein Überspringen des Antiserums in den anderen Schenkel und den Gummischlauch verhütet wird; daß sie offen einige Zeit liegen bleiben können, ohne befürchten zu müssen, daß Keime hineinfallen; daß die langen Schenkel leichter zugeschmolzen werden können, ohne das Antiserum dabei in Mitleidenschaft zu ziehen; endlich, daß dieses in beliebiger Menge leichter daraus zu entnehmen ist. Man knipst hierzu die zugeschmolzenen



Fig. 24.

Enden ab, tropft so viel Antiserum, wie man bedarf, ab und schmilzt die Schenkel wieder zu. Ist hingegen ein Röhrchen einmal geöffnet und der Inhalt nicht völlig verbraucht, so geht der Rest meist verloren, denn die Entnahme des Serums muß durch Einführung einer Kapillare geschehen, und dabei ist die Gefahr der Verunreinigung groß. Es arbeitet sich also sparsamer und steriler mit der Kugelkapillare; zur Versendung eignet sie sich allerdings weniger als das Röhrchen.

Die Kugelkapillaren werden aufrecht stehend aufbewahrt. Sollte sich bei der Aufbewahrung eine Ausfällung bilden, so senkt sie sich in den einen Schenkel. Um sie zu entfernen, braucht man nur diesen Schenkel oberhalb des Bodensatzes anzuritzen und abzubreehen.

Die Konservierungsgläschen müssen natürlich sorgfältig eine Stunde bei 150° C im Hitzeschränk sterilisiert sein, und es ist besonders darauf zu achten, daß sie völlig trocken in denselben

hineinkommen und langsam steigend erhitzt werden. Sie erhalten sonst leicht feine Sprünge, die bei späteren Temperaturschwankungen sich immer weiter fortsetzen und die Sterilität des Antiserums gefährden, da Keime durch sie eintreten können. So kommt es, daß man zuweilen in einer abgefüllten Serie Kapillaren nach einiger Zeit die eine oder andere völlig getrübt und verschimmelt findet, während alle anderen klar geblieben sind. Besonders an den braunen Röhrchen entgehen diese feinen Sprünge oft dem untersuchenden Auge. Die Röhrchen und Kapillaren sind darauf hin also vor der Einfüllung des Antiserums genau zu prüfen und zweifelhafte auszuschließen.

Das Antiserum hält sich, auf diese Weise behandelt, erfahrungsgemäß, vorausgesetzt, daß es ganz steril ist, wochen und monate-, ja in einzelnen Fällen sogar jahrelang. Es verliert allerdings mit der Zeit etwas an Wertigkeit, so daß der Titer, wenn es älter als einige Wochen ist, vor dem Gebrauch von neuem festzustellen ist.

Konservierende Zusätze können bei dieser Art der flüssigen Konservierung, die wir mit U h l e n h u t h jeder anderen vorziehen, wohl entbehrt werden. Viele der vorgeschlagenen Mittel schädigen das Antiserum in seiner Wertigkeit, andere haben sich nicht bewährt, weil sie es trüben.

S c h ü l l e r empfiehlt neuerdings eine 1,0proz. Diaphtherinlösung im Verhältnis 1 : 10 oder 1 : 20, mit der aber noch weitere Versuche zu machen sind, da auch das Diaphtherin die Wertigkeit des Antiserums beeinträchtigt; am unschädlichsten hat sich mir bisher die Karbolsäure in Verbindung mit physiologischer 0,85 proz. Na Cl-Lösung erwiesen und zwar wird von einer 3 proz. Karbolkochsatzlösung dem Antiserum im Verhältnis 1 : 20 zugesetzt. Wenn man also der Filtration nicht sicher ist, mag man diesen Zusatz wählen. Andere bevorzugen übrigens die 1 proz. Karbolkochsatzlösung (1 : 10), die auch schon genügend antibakterielle Wirkung haben soll. v. E i s l e r, E h r l i c h und S a c h s empfehlen die Aufbewahrung in gefrorenem Zustand („Frigo“-Apparat), in welchem es sich lange halten soll.

Hat sich bei der Aufbewahrung eine Ausfällung von Eiweiß gebildet (Autopräzipitation) und ist diese aufgerüttelt, so muß man ihr Absitzen abwarten, wobei das Röhrchen aufrecht gestellt

wird, oder man zentrifugiert. Danach ist der Titer wieder zu bestimmen. Eine eventuelle Salzausfällung ist durch sanftes Erwärmen des Antiserums leicht fortzuschaffen. Schimmelpilze, die manchmal als größere Flocken oder Belag sich zeigen (Sprünge im Röhrchen!), beeinträchtigen nicht die Klarheit und Wertigkeit. Ebensowenig die häufig beobachteten Fettniederschläge (Cholestearin). Bakteriell getrübtetes Antiserum ist dagegen nicht zu gebrauchen, da es meistens nicht gelingt, es genügend klar zu filtrieren.

Zu den Konservierungsverfahren muß auch das Eintrocknen des Antiserums im Vakuum gerechnet werden, eine Methode, die zuerst *Ehrlich* zur Konservierung der Testsera eingeführt hat. Die Eintrocknung erfolgt auf flachen sterilen Schalen in einem Vakuumkessel. Das Serum wird in millimeterdünner Schicht ausgegossen und bei einer Temperatur von $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$ in einem Vakuum von 3 cm Hg in 12 Stunden zu einer hornartig glänzenden spröden (gelbrötlichen) Masse eingetrocknet, abgelöst und in einem sterilen Mörser zerrieben. Es resultiert ein gelbliches Pulver, das in der dem ursprünglichen Quantum entsprechenden Menge Wasser von 30°C zu einer leicht opaleszierenden Flüssigkeit sich löst und in dieser Form benutzt wird. Der große Vorteil dieser Methode liegt neben der Haltbarkeit der getrockneten Antikörper auch gegen Temperaturen bis 40°C und mehr in der sehr kompensiösen Form und in dem leichten und sicheren Sterilhalten der Trockenpräparate, ihr einziger Nachteil in der Manipulation des Lösens vor dem Gebrauch und in dem Umstand, daß das Antiserum, in der 10 fachen Menge destillierten Wassers gelöst, eine oft milchig trübe Flüssigkeit gibt, so daß die spezifische Trübung dadurch verdeckt wird (*Schüller*).

Die Eintrocknung im Vakuum kann also schon aus diesem Grunde für *präzipitierende* Antisera nicht vorgeschlagen werden. Es kommt hinzu, daß man, da es sich bei Anstellung der Präzipitinreaktion um die Verwendung kleinster Mengen und um ein exaktes Arbeiten handelt, auf die subtilen Wägungen kleinster Gewichtsteile angewiesen wäre, die schwieriger zu dosieren sind als die kleinen Raumteile flüssiger Medien.

Mehr zu empfehlen ist, die zu einer Probe dienende Einzeldosis Antiserum auf Papier anzutrocknen (*Ottolenghi*, *Jakobsthal*, v. *Eisler*, *Berestneff*). Mit einer graduierten Pipette wird 0,1 ccm in einem großen Tropfen auf das

Papier gesetzt; nach 2—4 Stunden ist der Tropfen im Brutschrank bei 37 Grad zu einer festen glänzenden Kruste festhaftend an dem Papier angetrocknet. Diese Einzeldosen lassen sich im Exsikkator vor Licht, Feuchtigkeit und Wärme geschützt aufbewahren. Das Antiserum verliert zwar auch dann etwas an Wirksamkeit, aber doch nur ganz allmählich; nach 7 Monaten wurde noch der ursprüngliche Titer gefunden.

Zweifellos hat diese Art der Konservierung große Vorzüge. Das Antiserum ist gegen schädigende Einflüsse mehr gefeit; in einem Versuch vertrug es ein dreiviertelstündiges Erhitzen auf 100 Grad C, ohne Abschwächung zu zeigen, während flüssiges Serum nach halbstündiger Erhitzung auf 65 bis 70 Grad seine Wirkung einbüßt; erst 130° zerstörten die Eiweißkörper (E i s e n b e r g). Es ist bequem und ohne Schädigung zu versenden. Vor allem ist die Möglichkeit, nur die jeweilig notwendige Einzeldose entnehmen zu können, ein Gewinn. Endlich fällt auch der Materialverlust wie bei der Filtration getrübbten Antiserums fort.

Um ein Durchsickern der Tropfen zu vermeiden, muß das Papier von ziemlicher Stärke sein. Zweckmäßig ist schwarzes Papier (Naturpapier) (v. E i s l e r, K r a u s) zu verwenden, welches als dunkler Hintergrund die auftretende Trübung bei der Probe leichter erkennen läßt als weißes. Auch das beste schwarze Naturpapier gibt an die Flüssigkeit etwas Farbe ab, das eine einen mehr rötlichen, das andere einen grünlichen Ton; in der Zeit, welche zur Beurteilung der Reaktion gegeben ist (20 Minuten), darf dies natürlich nicht geschehen, wenn das Papier sich eignen soll. Daraufhin ist es vorher in einer Probe zu untersuchen.

Zur Anstellung der Reaktion spült man das ausgeschnittene Stückchen Papier, welches die Einzeldosis enthält, kurz mit Kochsalzlösung ab, um kleine Staub- oder Faserteilchen zu entfernen, und beschickt die zu untersuchende Eiweißlösung damit in der Weise, daß die Papierseite der Flüssigkeit aufliegt. Es schwimmt hier zunächst an der Oberfläche. Man lasse es da einweichen und schüttele nicht sofort um oder tauche es unter. Andernfalls wird die Luft aus den kleinen Maschen des Papiers nicht völlig verdrängt, und die unvollkommene Durchfeuchtung hindert die vollständige Lösung des Serums.

Hat das Papierchen sich vollgesogen, was in einer Minute gewöhnlich der Fall ist, so sinkt es von selbst zu Boden, oder

man taucht es jetzt unter und schüttelt das Röhrchen leicht. Das Antiserum löst sich in einer Minute vollständig auf; es senkt sich zu Boden und nimmt die Kuppe des Röhrchens ein. Von hier beginnt dann alsbald die Trübung bei positivem Ausfall der Reaktion sich auszubreiten.

Die Kontrollproben sind in derselben Weise anzustellen; besonders die mit Kochsalzlösung muß zeigen, daß das Antiserum sich nicht opaleszierend oder mit milchiger Trübung löst.

Endlich sollen Versuche nicht unerwähnt bleiben, das Antiserum im Tier selbst zu konservieren. Nach dem Vorgang von Kister und Wolff, Hauser, Gröning wird dem Tier, nachdem die Probeentnahme ein hochwertiges und artspezifisches Serum festgestellt hat, nur soviel Blut bzw. Antiserum entnommen, als zu der vollständigen Untersuchung des fraglichen Objektes einschließlich der Kontrollen erforderlich ist. Das sind etwa 8—10 ccm Blut, die 3—5 ccm Antiserum nach dem Absitzen geben. Ist das Serum klar, kann man die Kerzenfiltration ersparen, da es ja alsbald verwendet wird.

Das Tier wird dann später intraperitoenal weiter gespritzt, wenn es wieder Antiserum liefern soll. Es zeigt sich nämlich, daß das Tier seine Fähigkeit, Präzipitin zu bilden, wenn man es jetzt nach dieser Blutentnahme ungespritzt weiter leben läßt, allmählich verliert, und daß die Wertigkeit seines Blutserums erheblich, ja schließlich ganz zurückgeht. Aber dies ist kein Nachteil; es ruht nur aus und behält seine Disposition, hochwertiges Antiserum zu bilden, bei. Ja, es ergibt sich, daß diese Disposition, wenn es nach einigen Wochen wieder eine Serumdosis eingespritzt erhält, erheblich gesteigert ist, daß es nicht nur beschleunigt reagiert, sondern auch ein hochwertigeres Serum gibt als vorher, wie zuerst v. Dungen nachwies. Noch nach monatelangem Stilliegen ist diese erhöhte Disposition auch von mir gefunden worden.

Es ist zweifellos ein Vorteil, mit der Gewißheit rechnen zu können, stets in kurzer Zeit ein hochwirksames Antiserum zur Hand zu haben. Aber andererseits darf man sich nicht verhehlen, daß ein gespritztes Tier sehr empfindlich ist, daß es leicht erkranken und unbrauchbar werden kann. Manche dieser Tiere gehen im Laufe der Zeit an der Serumkrankheit unter Abmagerung und Durchfällen selbst bei bester Pflege zugrunde.

Daß der Titer zuweilen bei den folgenden Einspritzungen zurückgeht, kann ich mit U h l e n h u t h bestätigen und habe schon oben eine Erklärung dafür zu geben versucht. Ich entnehme daher das Blut dem Tier stets in einer oder mehreren Sitzungen vollständig und verwende für forensische Zwecke nur die flüssige Konservierung in der oben beschriebenen Weise.

Die Anstellung der biologischen Reaktion in der Praxis.

Der Wichtigkeit des Gegenstandes entsprechend habe ich der Bereitung, Gewinnung und Prüfung des Präzipitinserums einen größeren Raum gewidmet, um so kürzer kann ich mich jetzt bei der Besprechung der biologischen Probe selbst fassen.

Man entnimmt von dem Flecken, der Spur, die sich als Blut (durch die vorausgegangene mikroskopische, mikrochemische oder spektroskopische Untersuchung erwiesen hat, und erweicht, laugt im Reagenzröhrchen mit physiologischer 0,85 proz. NaCl-Lösung aus. Blutkrüstchen auf harten Gegenständen werden vorsichtig mit einem reinen Instrument (Messer) abgekratzt, am besten, über einem weißen Blatt Papier, damit nichts verloren geht. Von Stoffen wird ein 0,5 qcm großes Stückchen herausgeschnitten. Das Material wird möglichst zerschnitten, zerzupft und zerkleinert, desto schneller geht die Auslaugung vor sich. Instrumente und Röhrchen müssen peinlich sauber, die NaCl-Lösung absolut klar filtriert sein; daß sie steril sind, verlange ich, obwohl die Blutspur nicht steril ist.

Obschon die NaCl-Lösung nur ein schwaches Extraktionsmittel ist, sind wir auf sie angewiesen; Versuche mit einer Reihe von anderen Extraktionsmitteln hatten stets eine mehr oder minder große Hemmung bzw. Abschwächung der Reaktion zur Folge.

Das Röhrchen wird dann an einem kühlen Ort oder im Eisschrank sich selbst überlassen; öfteres Schütteln hat nicht viel Zweck, es vermehrt nur die Trübung der Lösung (Farbstoffe!). Läßt man das Röhrchen vielmehr ruhig stehen, so bleiben die festen Bestandteile am Boden, während von dem gelösten Eiweiß hinreichend in die Lösung übergeht. Nach verschieden langer Zeit, die von der Löslichkeit der Eiweißkörper, also in erster Linie von dem Alter der Blutspur abhängt, färbt sich die Ausziehungsflüssigkeit schwach gelblich. Aber diese Gelbfärbung ist natürlich

kein Beweis für eine genügende Auslaugung des Eiweißes; denn die Lösungsfähigkeit des Blutfarbstoffes braucht nicht parallel der der Eiweißkörper zu gehen.

Ob die Auslaugeflüssigkeit den erforderlichen Konzentrationsgrad von 1 : 1000 an Eiweiß hat, zeigt die leichte Schaumbildung, die beim Schütteln entsteht, oder wenn man sie mit der Pipette aufbläst. Man hebt oder gießt also die Flüssigkeit von dem Bodensatz ab in ein anderes Röhrchen, schickt sie, um sie völlig zu klären, durch ein mit Na Cl angefeuchtetes Papierfilter von gewöhnlichem Fließpapier und prüft sie durch Schütteln oder Aufblasen auf Schaumbildung. Da aber die Schaumbildung auch bei Vorhandensein von genügendem Eiweiß fehlen oder gering sein kann, sie wird z. B. behindert durch Eisenrost und Fette (Uhlenhuth), so fügt man gleich mit einem Teil des Extraktes einen chemischen Eiweißnachweis an: die Kochprobe mit Zusatz von Salpetersäure. Tritt eine bleibende opaleszierende Trübung auf, so hat die Auslaugeflüssigkeit den richtigen Eiweißkonzentrationsgrad (1:1000). Stärkere Extrakte sind mit Na Cl-Lösung auf diesen Grad zu verdünnen.

Wenn dann noch die Reaktion mittels Lackmuspapier geprüft ist und festgestellt ist, daß sie neutral, schwach sauer oder schwach alkalisch ist (ev. muß mit 0,1 proz. Sodalösung oder Magnesiumoxyd neutralisiert werden), so kann man an die Ausführung der biologischen Probe gehen.

Von dem Extrakt wird 0,9 ccm mit der Pipette in ein besonders sauberes und fehlerloses Reagenzgläschen gefüllt, wobei Schaumbildung zu vermeiden ist, und von dem spezifischen Antiserum 0,1 ccm so zugesetzt, daß es an der Wand des Röhrchens langsam herabfließt (Röhrchen dabei schräg halten!). Entsteht innerhalb 5 Minuten an der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten eine ringförmige hauchartige Trübung, die nach weiteren 5 Minuten sich verdichtend wolkig wird, nach oben und unten sich verbreitert, dann feinkörnig wird und nach weiteren 10 Minuten als Flocken sich zu Boden senkt, so hat das Antiserum im Antigen dem Extrakt, gleichartiges Eiweiß gefunden.

Ist nun das Antiserum bereits früher sorgfältig auf seine Klarheit (mangelnde Opaleszenz), auf seinen Titer und seine Spezifität geprüft, so brauchen wir die dabei angestellten Kontrollproben jetzt nicht alle zu wiederholen. Unerläßlich sind jedoch

in jedem Falle folgende *K o n t r o l l p r o b e n* bei Ausführung der Probe:

Ein Röhrchen mit 0,9 ccm absolut klarer, steriler NaCl-Lösung + 0,1 ccm Antiserum, das natürlich klar bleiben muß;

ein Röhrchen mit 0,9 ccm Auslaugeflüssigkeit + 0,1 ccm Normalblutserum der *T i e r a r t*, welche zur Vorbehandlung benutzt wurde, also meistens Kaninchennormalserum. Sie weist nach, daß Blutserum an sich nicht schon trübt;

ein Röhrchen mit 0,9 ccm Kochsalzextrakt aus *g e t r o c k n e t e m* *B l u t e* der Art, auf die das Antiserum eingestellt ist, die also auch in der zu untersuchenden Flüssigkeit vermutet wird, in der empirisch festgestellten Verdünnung $\frac{1}{1000}$, + 0,1 ccm Antiserum;

ein Röhrchen mit 0,9 ccm *S e r u m* verdünnung $\frac{1}{1000}$ der Blutart, welche zur Einspritzung benutzt wurde, + 0,1 ccm Antiserum. Diese beiden Kontrollen zum Vergleich des Reaktionsablaufes mit dem in der Untersuchungsflüssigkeit.

Und endlich machte *W a s s e r m a n n* darauf aufmerksam, daß es sich häufig empfiehlt, aus der blutfreien Umgebung des Fleckens eine Partie zu extrahieren und biologisch zu prüfen; dann nämlich, wenn der Verdacht besteht, daß andersartiges, organisches Eiweiß neben dem Blut sich an der Spur befinde. Es sei nicht anzunehmen, daß die beiden eiweißartigen Stoffe die gleiche Begrenzung haben. Eine Vorsichtsmaßregel, die ja auch bei der Komplementbindungsmethode geübt wird:

also ein Röhrchen mit 0,9 ccm klar filtrierten Stoff-(Substrat-)Extraktes + 0,1 ccm Antiserum, das natürlich klar bleiben muß.

Von den *T i e r b l u t k o n t r o l l e n*, die ja schon bei der Spezifitätsbestimmung angestellt sind, kann hier abgesehen werden, wenn das Antiserum sich als völlig artspezifisch erwiesen hat. Ist das aber nicht der Fall, greift es auf heterologe Blutarten über, so sind diese nochmals in der Verdünnung 1 : 1000 zur Kontrolle und zum Vergleich des heterologen Reaktionsablaufes heranzuziehen. Ein Antiserum, welches in mehreren heterologen Blutarten und in erheblicher Stärke Trübungen gibt, sollte von der forensischen Verwendung ausgeschlossen sein.

Zuweilen ist die Blutspur so gering — es handelt sich z. B. um kleinste Spritzer an Leibwäsche oder Gegenständen —, daß

das Material zu der geschilderten Art der Untersuchung nicht reichen würde. Denn selbstverständlich muß die Menge der physiologischen Na Cl-Lösung im Verhältnis zu der Größe der Spur gehalten werden, und dieses Verhältnis richtig zu wählen, lehrt nur die Erfahrung.

Um die geeignete Eiweißkonzentration auch aus einer kleinen Spur zu erhalten, kann man auf folgende Weise verfahren: Man laugt zunächst, um recht viel Blutfarbstoff in Lösung zu bringen, das Blutschüppchen oder Zeugstückchen, nach sorgfältigster Zerkleinerung desselben, in einem Röhrchen mit 0,5 ccm destillierten Wassers aus, pipettiert, nachdem die Flüssigkeit sich mehr oder weniger rötlich gefärbt hat, die Hälfte derselben mit einer Kapillare in ein anderes Röhrchen ab, bringt sie mit ein paar Tropfen konzentrierter KOH auf etwa 1 ccm, engt den in dieser Flüssigkeit vorhandenen Blutfarbstoff mittels der Pyridinprobe ein und spektroskopiert oder mikrospektroskopiert (s. o.).

Den im ersten Röhrchen verbliebenen Rest bringt man durch Zusatz von 1,7 proz. Na Cl-Lösung \overline{aa} auf physiologischen Na Cl-Gehalt, klärt die Lösung durch starkes Zentrifugieren, pipettiert sie (ca. 0,3—0,4 ccm) in ein reines Röhrchen oder Uhrschildchen ab und untersucht sie biologisch mittels der

Hauserschen Kapillarmethode.

Diese Methode bildet eine sehr glückliche Ergänzung der biologischen Röhrchenprüfung. Sie ist ebenso verläßlich wie diese, trotzdem sie so minutiös ist; sie gestattet wie diese, alle erforderlichen Kontrollen anzulegen, und nach der C a r n w a r t h schen Methode auch die B e s t i m m u n g d e r E i w e i ß k o n z e n t r a t i o n auf folgende Weise: Man saugt von dem Extrakt in eine durch Auskochen mit destilliertem Wasser über der Bunsenflamme sterilisierte Kapillare bis zu 2 cm Höhe, schmelzt sie an beiden Enden zu, erhitzt sie einige Sekunden in kochendem Wasser, entleert, nach Abknipsen der zugeschmolzenen Enden, die Flüssigkeit auf einen Objektträger, fügt ihr etwa den 4. Teil 25 proz. Salpetersäure zu und mischt mit Glasnadel. Die Eiweißkonzentration 1 : 1000 gibt sich durch eine auf schwarzer Unterlage deutliche opaleszierende Trübung kund.

Ist die passende Eiweißkonzentration auf diese Weise festgestellt, so bringt man einen großen Tropfen der Untersuchungs-

flüssigkeit und des Antiserums auf je einen Hohlobjektträger und nimmt nacheinander mit einer wie oben sterilisierten Kapillare die Tropfen auf. Das gelingt leicht durch Kapillarattraktion, wenn man die Kapillare schräg auf den Tropfen aufsetzt und eventuell den Objektträger auch noch schräg neigt. Man unterschichtet auch hier wieder die beiden Flüssigkeiten, indem man zuerst den Tropfen der Untersuchungsflüssigkeit, dann den des Antiserums aufnimmt. Verschließt man nach der Aufnahme jedes Tropfens die obere Öffnung der Kapillare fest mit dem Zeigefinger, so läßt sich das Eintreten von Luftblasen und das Ausfließen von Flüssigkeit vermeiden. (Das will gelernt sein; man mache also erst einige Versuche mit Wassertropfen.) Zum Schluß wird die untere Kapillaröffnung mit Plastilin verklebt und die Kapillare aufrecht in ein Glas gestellt. An der Berührungszone beider Flüssigkeiten entsteht alsbald ein deutlicher weißlicher Ring, der sich dichter werdend nach oben und unten verbreitert, dann feinkörnig wird und schließlich sich langsam in kleinen Flöckchen senkt — wenn das Antiserum homologes Eiweiß im Antigen gefunden hat.

In derselben Weise werden die Kontrollen ausgeführt. Vor allem ist auch hier wieder die Kontrolle: physiologische NaCl-Lösung + Antiserum wichtig. Zuweilen sieht man bei dieser zunächst an der Berührungszone eine schwache hauchartige Trübung entstehen, die auf einer momentanen Salzausfällung beruht und bald wieder vergeht.

Eine ähnliche ganz feine hauchartige Ringbildung stellt sich manchmal auch in den Kontrollen mit Tierblut ein; ein rein optisches Phänomen, welches auf der verschiedenen Lichtbrechung der beiden Seren, die verschiedene Dichte haben, an ihrer Grenzschicht beruht. Auch diese Trübung vergeht bald wieder, nachdem sich an der Berührungszone die Konzentration ausgeglichen hat. Die spezifische Präzipitattrübung wird hingegen allmählich immer dichter und breiter.

Weil die Kapillarprobe so minutiös ist und keine Wiederholung gestattet, stelle ich an die Reaktion höhere Anforderungen und sehe nur in einem sofortigen deutlichen dichten Ring an der Berührungszone, der fortlaufend die Phasen der spezifischen Fällung darbietet, einen einwandsfreien positiven Ausfall der Reaktion.

Besonders brauchbar hat sich die *H a u s e r* sche Kapillarmethode auch bei der biologischen Untersuchung blutsaugender Insekten erwiesen, welche die *U h l e n h u t h* sche Schule mit Erfolg ausgeführt hat.

Der Vollständigkeit halber sei schließlich noch erwähnt, daß die Präzipitation auch im hängenden Tropfen beobachtet werden kann, und von *R o b i n* die Schnelligkeit der Reaktion bei dieser Methode hervorgehoben wird. *G r ü n b a u m*, *T c h i s t o v i t c h*, *T a r c h e t t i*, *M o d i e a* und *B i o n d i* haben sich ihrer ebenfalls mit Erfolg bedient. Ich möchte nur dem Geübten vorbehalten, lediglich auf Grund dieser Probe ein Urteil abzugeben, und rate, sich von der Klarheit und Reinheit der Lösungen zunächst mikroskopisch zu überzeugen.

Von dem (durch Papierfilter) filtrierten Extrakt aus dem Blutfleck wird mit der Kapillare ein Tropfen auf ein Deckgläschen gebracht, ein Tröpfchen Antiserum zugefügt und der hängende Tropfen bei starker Vergrößerung mikroskopiert. Nach einigen Minuten beginnt sich ein feinkörniger Niederschlag zu bilden, der nach und nach an Dichte und Menge zunimmt.

Von einem quantitativen Arbeiten kann hier ebensowenig wie bei der Kapillarmethode die Rede sein, immerhin kann der Extrakt in der vorgeschriebenen Verdünnung (1 : 1000) benutzt werden.

Die Kontrollproben mit heterologem Blut und Kochsalzlösung sind in derselben Weise auszuführen.

Die forensische Beurteilung der Tragweite und der Fehlerquellen der biologischen Reaktion.

Je mehr wir über die Tragweite und die Fehlerquellen der biologischen Reaktion unterrichtet sind, desto sicherer können wir das Ergebnis der Untersuchung vertreten.

Wie schon angedeutet, ist die Präzipitinreaktion nur unter gewissen Kautelen als spezifisch anzusehen. Nach zwei Seiten erleidet ihre Spezifität eine Einschränkung, nach der chemischen und nach der biologischen. Die Hoffnung, mit Hilfe der Präzipitinreaktion die verschiedenen Eiweißkörper nicht nur der Arten und der Individuen, sondern auch des Körpers chemisch und biologisch exakt zu differenzieren, hat sich nicht völlig erfüllt. Weder ist

die Scheidung der Globuline und Albumine vollständig gelungen noch die Trennung der Eiweißkörper des Blutserums von den anderen des Körpers. Ein mit Blutserum erzeugtes Präzipitin wirkt auch auf Milchserum, auf Sperma-, Eiter- Sputum-, Knochen-, Muskel-Eiweiß, kurz auf alle Eiweißstoffe der Organe, der Se- und Exkrete desselben Körpers. Die Differenzen der Reaktion sind nur quantitative.

Forensisch ist daher immer zu betonen, daß die Präzipitinreaktion — in ihrem jetzigen Gewande — kein Blutnachweis ist, sondern, wie Wassermann von Anfang an wissen wollte, ein Eiweißnachweis, eine Eiweißdifferenzierungsmethode im weiteren Sinne. In jedem Fall muß zunächst und gesondert der Nachweis, daß Blut als solches vorliegt, mit den chemischen mikroskopischen, und spektroskopischen Methoden erbracht werden. Der Schluß auf die betreffende Blutart geschieht dann lediglich durch Verbindung des Ausfalls beider Untersuchungen. Er ist, wie Neißer-Sachs sagen, keine wissenschaftliche Folgerung aus der Untersuchung, sondern ein je nach den Umständen mehr oder weniger berechtigter Wahrscheinlichkeitsschluß, wenn beide Untersuchungen im positiven Sinne ausfallen.

Wie die Organspezifität der Reaktion keine absolute ist, so auch die Artspezifität. Ein Präzipitinserum reagiert nicht nur auf die zu seiner Herstellung benutzte Eiweißart, sondern, wenn auch wieder in geringerem Maße und langsamer, auch auf die Eiweißstoffe verwandter Arten. Eine solche Verwandtschaftsreaktion hat sich gefunden zwischen den Eiweißkörpern von Pferd und Esel, Ziege, Schaf und Rind, Hund und Fuchs, Hase und Kaninchen, Huhn und Taube, vor allem zwischen Mensch und Affe, besonders den Anthropoiden (Orang, Gorilla, Schimpanse), den Affen der alten Welt. Und sie geht herab zu den wirbellosen Tieren: auch hier zeigten die Versuche v. Dungen's das Übergreifen der Präzipitine zwischen *Octopus vulgaris*- und *Eledone moschata*-Arten.

Schließlich wird die Spezifität der Reaktion durch die Tatsache eingeschränkt, daß manche Antiseren auch in heterologem Bluteiweiß, und zwar auch in solchem von entfernter stehenden Tierarten, eine Eiweißfällung verursachen; auch hier sind die Reaktionen nur zeitlich und quantitativ different.

Man nimmt an, daß die Präzipitine keine einheitlichen Eiweißkörper sind, daß sie vielmehr aus Partialgruppen bestehen und neben den spezifischen mehr oder weniger zahlreiche Eiweißmoleküle besitzen, die einen gemeinsamen Artharakter haben (W a s s e r m a n n , H a m b u r g e r). In dem mit Menschenblutserum erzeugten Präzipitin sind neben den spezifisch menschlichen Antikörpern auch noch solche Partialantistoffe enthalten, die auf die dem Menschen- und Affenserum gemeinsamen Komponenten wirken, ja vielfach solche von weiter abstehenden Tieren, vom Hund, Pferd, Schwein, Rind, Hammel.

Und das gleiche gilt wahrscheinlich auch von der präzipitablen Substanz; auch sie besteht aus zahlreichen differenten, nur mit bestimmten Partialpräzipitinen reagierenden Körpern (v. D u n g e r n).

Es hat nicht an B e m ü h u n g e n gefehlt, diese besonders in der forensischen Praxis empfundenen Mängel der Präzipitinreaktion zu beheben, i h r e S p e z i f i t ä t z u e r h ö h e n.

U h l e n h u t h selbst hat versucht, die V e r w a n d t s c h a f t s r e a k t i o n e n auszuschalten, und er hat damit mehr Erfolg gehabt als vor ihm B o r d e t, N o l f, S c h u r und B i a n d i. Er hat eine größere Zahl Kaninchen mit Hasenblut vorbehandelt, und es ist ihm gelungen, durch diese **kreuzweise Immunisierung** allerdings schwache, aber für Hasenblut spezifische Präzipitinsera zu erzeugen. In ähnlicher Weise konnte er Hühner- und Taubenblut, Menschen- und Affenblut differenzieren. Müßte also in einem forensischen Falle Menschenblut gegen Affenblut exakter abgegrenzt werden, so wäre ein Versuch mit der Impfung eines Affen der alten Welt, der dem Menschen am nächsten steht, zu machen.

Ich selbst habe aus Anlaß eines forensischen Falles, in welchem Hasenblut an einem Kleidungsstück nachzuweisen war (31. 8. 09), Hühner und Kaninchen mit Hasenblut (frischem und getrocknetem) vorbehandelt. Von ersteren erhielt ich ein zwar hochwertiges, aber nicht artspezifisches Serum; es griff fast stets in höherem Maße auf Kanincheneiweiß über. Dagegen war das vom Kaninchen erhaltene Hasenantiserum zwar schwach (bis 1 : 1000 in 20 Minuten), aber artspezifisch; es gab mit Kaninchenserum keine Reaktior. ¹⁾.

¹⁾ Daß auch noch höhere Werte durch längere und sorgfältige Behandlung zu erzielen sind, beweist eine Probe vom Kaninchen ge-

Bisher gelang nicht durch die kreuzweise Immunisierung die Differenzierung zwischen Pferd und Esel, Hammel und Ziege, Schaf und Ziege. H a m b u r g e r suchte daher in einem Falle, wo es Ziegen-, Rinder- und Schafblut voneinander abzugrenzen galt, dadurch zum Ziele zu kommen, daß er drei Kaninchen mit den drei Blutarten impfte, mit den erhaltenen Immunseren von annähernd gleicher Wirksamkeit und dem unbekannten Antigen die Reaktion anstellte und deren Ausfall verglich. Die Fällung war mit dem Ziegenantiscrum am stärksten, der Schluß auf Ziegeneiweiß im Antigen also gerechtfertigt. Unter der Voraussetzung, daß die in ihrer Wirkung zu vergleichenden Antisera möglichst die gleiche Wertigkeit haben, worauf sie vorher zu prüfen und eventuell durch Verdünnung mit Na Cl-Lösung zu bringen wären, sowie daß das Antigen ein einfaches, keine Blutmischung verschiedener Arten ist, wird man diese Methode bei Tierarten, die der kreuzweisen Immunisierung unzugänglich sind, wohl versuchen können.

Man sieht, wie wichtig es für die Inangriffnahme und Ausführung der Untersuchung ist, daß der Sachverständige über den Fall ausgiebig unterrichtet wird. Dann kann er etwaige Einwände gegen das Ergebnis gleich durch die Art der Untersuchung widerlegen.

Trotzdem bei einer Untersuchung auf Menschenblut die Abgrenzung von Affenblut in unseren Gegenden kaum erforderlich ist, zwingt die forensische Gewissenhaftigkeit dazu, bei positivem Ausfall der Reaktion das Gutachten in der Weise zu formulieren, „daß der Schluß auf Menschenblut nur dann gestattet ist, wenn Affenblut den Umständen nach sicher auszuschließen ist“. Denn das vom Kaninchen gewonnene Menschenantiserum gibt auch in Affenblut eine Eiweißfällung, wenn auch langsamer und schwächer.

U h l e n h u t h versuchte dann auch eine Differenzierung der G e s c h l e c h t e r und B r u c k der R a s s e n. Ersterer erhielt von Kaninchen, die er mit Hühnereiweiß vorbehandelt hatte, ein Antiserum, welches das Eiweiß von Hühnern stärker präzi-

wonnenen Hasenantisera, welche ich kürzlich durch die Liebenswürdigkeit Uhlenhuths erhielt, und die bei völliger Artspezifität einen Titer von 1:10 000, in 2 Min. dichte Trübung hatte.

pitiierte als das von Hähnen; letzterer konnte mittels der Komplementbindung Unterschiede im Eiweiß der weißen von der mongolischen und malaiischen Rasse aufdecken. Marshall und Teague gelang dies jedoch nicht, ebensowenig wie Linossier und Lemoine die Differenzierung von Rassen und Individuen. (Über individuelle Blutdifferenzierung siehe auch „Die Agglutination“ S. 96.)

Um die Partialpräzipitine, die heterologe Fällungen verursachen, aus einem Antiserum oder auch aus dem Antigen herauszuschaffen, die spezifischen zu isolieren und so der Präzipitinreaktion eine erhöhte Spezifität zu geben, wandten Ascoli, Kister und Weichardt, v. Dungern u. a. die der elektiven Absorption nach Ehrlich und Morgenroth nachgebildete **Methode der spezifischen Absättigung** an. Erstere vermochten hiermit nicht nur verwandte Arten (und Rassen, Bruck), sondern auch individuelle Eiweiße zu differenzieren, und ebenso gelang die Trennung von Blut- und Organeisweißen (Weichardt, Maragliano, Schütze, H. Pfeiffer, Liepmann, Grund, Forßner u. a.). Zur Absättigung des Antigens wären durch ev. mehrmaligem Zusatz der heterologen Antisera die mit diesen reagierenden Bestandteile auszufällen. Nach Abzentrifugieren des jedesmaligen 24stündigen Niederschlags blieben dann nur die auf das homologe Antiserum wirkenden spezifischen Affinitäten zurück.

Es bedarf kaum einer Begründung, daß diese Reihe von zeitraubenden Maßnahmen mit einem forensischen Antigen nicht durchzuführen ist.

Besser würde sich hier die Absättigung des nicht genügend organ- oder artspezifischen Antiserums mit den verschiedenen heterologen Eiweißen, mit denen es reagiert, eignen. Aber auch diese ist umständlich und bietet technische Schwierigkeiten. Es ist vor allem auch hier wieder erforderlich, worauf Grund mit Recht hinweist, nur die dem Reaktionsoptimum entsprechende Menge der heterologen präzipitablen Substanz zu dem Antiserum zuzusetzen. Ein Zuviel kann durch den Eintritt einer nicht spezifischen Eiweißausfällung eine Schwächung der später zu erwartenden spezifischen Wirkung des Antiserums verursachen; oder es kann andererseits durch den Überschuß zu einer Hemmung

der nicht spezifischen Reaktion an Stelle der Ausfällung kommen. Dieses Optimum muß in Vorversuchen für jedes heterologe Eiweiß festgestellt und so oft zum Antiserum zugesetzt werden, bis keine Fällung mehr erfolgt, und das Antiserum nur mehr spezifisch reagiert. Ehrnrooth fand die Methode für die Praxis nicht brauchbar; er erhielt mit den abgesättigten Antiseren stets nur Opaleszenzen, keine deutlichen Fällungen. Die individuell-spezifische Reaktion war also offenbar durch die Absättigung geschwächt worden.

Endlich gibt es noch einen dritten Weg. Anstatt mit den verschiedenen heterologen Eiweißarten kann man das Antiserum mit dem individuell-homologen Serum absättigen. Es darf dann mit beliebigen anderen homologen Seren noch reagieren, nicht jedoch mehr mit dem Extrakt der Blutspur, wenn diese mit dem zur Absättigung benutzten Serum identisch ist.

Dieser Weg scheint mir in praxi der gangbarste und ich habe ihn in einem (nicht forensischen) Fall (10. I. 1910) zu gehen versucht, wenn ich mir auch nicht verhehlte, daß das Ausbleiben einer Reaktion nur einen Wahrscheinlichkeitsschluß gestatte.

Zur Verfügung standen: die Blutspur, fünfpfennig- bis markstück-große Blutstropfen an einer Kalkwand; defibriniertes Blut bzw. Blutserum der Person (X), von der jene Spur vermutlich herrührte; zwei Menschen-Normalseren; ein auf Menschenblut eingestelltes Antiserum vom Titer $1/1000$ sofort starke Trübung, $1/10000$ nach 5 Minuten deutliche Trübung. 2 ccm des Antiserums wurden mit 0,1 ccm des Blutserums X, 2 weitere ccm mit 0,5 ccm Blutserum X abgesättigt und nach 3 Stunden der in Senkung begriffene Niederschlag abzentrifugiert. Auf erneuten Zusatz von 0,1 bzw. 0,5 ccm Antiserum erschien nur mehr in der zweiten Antiserumpartie ein geringer Niederschlag, der nach 18 Stunden abzentrifugiert wurde. Folgende Reaktionen wurden dann wiederholt angestellt:

1. Menschen-Antiserum mit Menschen-Normalserum A: sofort starke Trübung, nach 18 Stunden starkes Sediment.
2. Menschen-Antiserum mit Menschen-Normalserum B: sofort starke Trübung, nach 18 Stunden starkes Sediment.
3. Menschen-Antiserum mit Blutserum X: sofort starke Trübung, nach 18 Stunden starkes Sediment.
4. Menschen-Antiserum mit Spur-Extrakt: sofort starke Trübung, nach 18 Stunden starkes Sediment.
5. Abgesättigtes Menschen-Antiserum mit Menschen-Normalserum A: 5 Minuten deutlich, 20 Minuten stark, 18 Stunden Sediment.

6. Abgesättigtes Menschen-Antiserum mit Menschen-Normalserum B: 5 Minuten deutlich, 20 Minuten stark, 18 Stunden Sediment.

7. Abgesättigtes Menschen-Antiserum mit Blutserum X: 20 Minuten negativ, 3 Stunden ganz schwache Opaleszenz, 18 Stunden Spur Sediment.

8. Abgesättigtes Menschen-Antiserum mit Spur-Extrakt: 5 Minuten Opaleszenz, 20 Minuten deutliche Trübung, 18 Stunden Sediment.

Auf Grund des stets gleichen Ausfalls dieser wiederholt angestellten Reaktionen konnte nicht für wahrscheinlich erachtet werden, daß die Blutspur und das Blutserum X von ein und derselben Person herührten.

Dehne hat die von Halban und Landsteiner, Eisenberg, v. Dungern, Rostowski, L. Michaelis gefundene, vielfach bestätigte Tatsache, daß Überschuß des homologen, unverdünnten Eiweißes den spezifischen Niederschlag hemmt bzw. den schon gebildeten wieder löst (Gesetz der spezifischen Löslichkeit), herangezogen, um spezifische Fällungen von nichtspezifischen abzugrenzen.

Er setzt biologische Proben von 2,0 ccm Antigen + 0,1 ccm Antiserum an. Nach 20 Minuten wird die getrübe Probe geschüttelt, in vier gleiche Teile geteilt und jeder Teil mit 1,0 ccm unverdünntem Menschen-, den in Betracht kommenden Tierseren und physiologischer Na Cl-Lösung versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° im Brutschrank gehalten. „Nach 10—20 Minuten schon tritt in der Probe, zu welcher homologes Serum gekommen ist, Klärung ein. Nach 24 Stunden zeigt dieses Röhrchen keinen Niederschlag, die andern dagegen das heterologe Sediment.“

Absolut klare, nicht opaleszierende und sterile Normalsera sind Vorbedingung für den Versuch.

Von mir angestellte Nachprüfungen dieser Kontrollprobe haben ergeben, daß die passende Dosierung des Überschusses an Normalserum schon in einfachen Antigenen, zumal vor vollständigem Ablauf der Reaktion, überaus schwierig ist, daß 1,0 ccm nicht immer genügt, das Präzipitat in Lösung zu halten. Man hat dann in allen Röhrchen mehr oder weniger schwache Fällungen. Noch schwieriger wird die Dosierung in Artgemischen, denn nach den Untersuchungen von Rostowski und L. Michaelis ist jede Eiweißlösung im Überschuß imstande, jede Präzipitinreaktion in gewissem Grade zu hemmen und schwache Niederschläge in der Schwebe zu erhalten.

Dasselbe gilt für die H e m m u n g der spezifischen Reaktion durch P r ä z i p i t o i d s e r u m, durch die ich versucht habe, die spezifischen von heterologen Trübungen zu unterscheiden. Versetzt man präzipitable Substanz mit Antiserum, dessen Präzipitine durch $\frac{3}{4}$ stündiges Erhitzen auf 70—72° C in Präzipitoide umgewandelt sind, und einige Zeit (10 Minuten) später mit unverändertem spezifischen Präzipitin, so tritt eine Hemmung der Ausflockung ein. Die Präzipitoide haben eine stärkere Avidität zur präzipitablen Substanz als die Präzipitine. Diese zuerst von L. Michaelis beobachtete Erscheinung ist streng spezifisch. Aber wie bei der D e h n e s c h e n Kontrolle in der passenden Dosierung des Überschusses liegt auch hier der Schwerpunkt in der exakten Dosierung des Präzipitoids, d. h. die Grenze ist scharf zu treffen, wo die Hemmung gerade eben noch vollkommen ist. Wird zu wenig zugesetzt, so wird die Reaktion zwar verlangsamt, aber nicht völlig verhindert, während ein Zuviel andererseits auch die heterologe Reaktion zu hemmen vermag. Diese richtige Dosierung hängt nicht nur von der Kenntnis der Wertigkeit des Antiserums, sondern auch von der der Konzentration des Antigens ab.

Endlich sind auch die Methoden der Bestimmung des Titers, der Wertigkeit des Antiserums gegenüber dem homologen und heterologen Eiweiß, die wir oben besprochen haben, Mittel, die Spezifität des Antiserums zu erhöhen, da sie ein quantitatives Arbeiten ermöglichen.

Die Erfahrung hat gelehrt, daß, wenn ein Antiserum störende heterologe Affinitäten hat, die unpassendste Verbindung zur Anstellung der Reaktion konzentriertes Antigen + hochwertiges Antiserum ist. Denn mit der Erhöhung der spezifischen Wertigkeit wachsen natürlich auch die heterologen Präzipitine, und diese finden in der konzentrierten Eiweißlösung reichlich verwandte Gruppen.

Viel geeigneter sind also die Verbindungen: verdünntes Antigen + hochwertiges Antiserum oder: konzentriertes Antigen + minderwertiges Antiserum. K i s t e r und W o l f f empfahlen daher, als ihre Studien die heterologen Übergriffe mancher Seren zeigten, in der forensischen Praxis nicht zu hochwertige Antiseren (etwa solche vom Titer 1 : 100) zu verwenden und die Eiweißlösung dementsprechend konzentrierter (1 : 100) zu wählen.

Die häufig ganz geringfügigen Blutspuren, die zur forensischen Untersuchung kommen, verbieten jedoch von selbst die Verwendung so geringwertiger Antisera. Die Konzentration 1 : 1000, geschweige denn die 1 : 100, ist im Extrakt nicht immer zu erreichen. Bei allzu langem Auslaugen entstehen überdies unliebsame Trübungen im Antigenextrakt.

Wir fordern daher von einem forensischen Antiserum, wie dies auch U h l e n h u t h und B e u m e r von Anfang an getan haben, eine höhere Wertigkeit, von 1 : 20 000 bis 1 : 30 000 und darüber, und verdünnen konzentriertere forensische Blutextrakte dementsprechend auf mindestens 1 : 1000. Wir nehmen dabei allerdings eine Abschwächung und Verlangsamung auch der spezifischen Reaktion mit in den Kauf, trotzdem ist der Abstand der Reaktionsgrenzen für das homologe und heterologe Eiweiß meist weit genug, um die spezifische Reaktion als solche mit genügender Sicherheit erkennen zu können.

Auch aus dem Grunde empfiehlt sich diese Verdünnung, weil der Überschuß an präzipitabler Substanz die Reaktion hemmt, und also auch bei vorhandenen spezifischen Komponenten die Niederschlagsbildung gering sein oder gar ganz ausbleiben kann. Und endlich auch, weil nach den Untersuchungen von P i c k , M o l l , M a r a g l i a n o , F r i e d e m a n n u. a. der Niederschlag, das Präzipitat, im wesentlichen vom Präzipitin, vom Antiserum, stammt, Verdünnung der präzipitablen Substanz bis zu einem gewissen Grade die Stärke der Reaktion weniger beeinflußt, als es Verminderung der Präzipitinmenge tun würde.

Leider läßt sich in der Praxis die Forderung, bei Anstellung der Reaktion quantitativ zu arbeiten, nicht immer erfüllen. Ist die Blutspur sehr gering, so kann immerhin die H a u s e r s c h e Kapillarmethode, die noch Millionstel eines Kubikzentimeters Eiweiß nachzuweisen gestattet, zum Ziele führen.

Weit größere Schwierigkeiten entstehen aber, wenn dem spezifischen Eiweiß fremdartiges beigemischt ist — heterologes Tier- oder Organeiweiß — in einer Menge, die es unmöglich macht, für das spezifische den Konzentrationsgrad 1 : 1000 nach den praktisch erprobten Vorschriften U h l e n h u t h s und B e u m e r s (Kochprobe auf Eiweiß, Schaumbildung beim Schütteln) gerade zu treffen. Die geforderten Merkmale können von dem fremdartigen Eiweiß herrühren, während das spezifische

in weit geringerer Menge in der Lösung enthalten ist. Diese Fälle sind gewiß selten in der Praxis. Immerhin sind uns wie auch U h l e n h u t h solche vorgekommen, wo das an den Kleidern oder Gegenständen befindliche Menschenblut absichtlich oder zufällig (beruflich) mit Tierblut vermischt war. Auch S a c h s und B a u e r haben an einen derartigen Fall Untersuchungen angeknüpft, von denen noch die Rede sein wird. Bei einer schwachen Reaktion in einem solchen Gemisch kann — wenn das Antiserum nicht artspezifisch ist — die Beurteilung erschwert sein, ob sie eine spezifische oder heterologe ist.

Überdies drängt sich die Frage auf, ob und inwieweit eine Beeinträchtigung der spezifischen Reaktion durch die Anwesenheit heterologen Eiweißes zu erwarten ist. U h l e n h u t h und B e u m e r geben ganz allgemein an, daß eine Diagnose auch bei Gegenwart mehrerer Blutarten möglich sei, jede einzelne aus der Mischung erkannt werden könne. N u t t a l, Z i e m k e konnten ebenfalls in Versuchen das homologe Eiweiß mittels der Reaktion nachweisen. Sie arbeiteten allerdings mit Mischungen aus gleichen Teilen, die in der Praxis kaum je zu erwarten sind. Z i e m k e m i s c h t e je 1 ccm Sodaauszug aus Flecken von Rinder-, Schweine-, Hunde-, Pferde-, Kälber-, Schaf- und Katzenblut mit je 1 ccm aus Menschenblut und erhielt stets eine prompte und kräftige spezifische Reaktion. Das benutzte Antiserum war ein sehr artspezifisches Menschenantiserum, da unvermischte Tierblutlösungen auch nach Stunden vollkommen klar blieben.

Demgegenüber berichten H a l b a n und L a n d s t e i n e r, daß die Anwesenheit von Pferde- und Rinderserum neben menschlichem die Präzipitation dieser letzteren nach ihren Erfahrungen hemme, nicht aber Hunde-, Kaninchen- und Hühnerserum. Zu ähnlichen Schlüssen gelangten auch S a c h s und B a u e r, die Menschenserum mit Schweine-, Rinder- und Pferdeserum in verschiedenen Art- und Mengenverhältnissen mischten. Es gelinge nur die in stärkerer Konzentration vorhandene spezifische Art zu ermitteln. Sie geben daher dem Komplementverfahren bei der Untersuchung von Artgemischen den Vorzug, da es spezifischer, empfindlicher sei und viel geringerer Mengen des spezifischen Antigens bedürfe, als sie für die Präzipitation erforderlich seien. Noch weiter führten die Untersuchungen von L. M i c h a e l i s, R o s t o s k i, die fanden, daß jede Eiweiß-

lösung in etwas erheblicherer Konzentration jede Präzipitinreaktion in geringer Weise derart hemmt, daß das Ausfallen des Niederschlags verlangsamt wird, und daß ein sehr geringer Niederschlag unter Umständen ganz in der Schwebe gehalten werden, die Reaktion also negativ ausfallen kann.

Zahlreiche Versuche sind auch von mir in dieser forensisch wichtigen Frage angestellt worden. Sie sind angeregt worden durch einen Fall, in welchem die Frage zu entscheiden war, ob sich an der Hose eines Angeklagten, die durch die Berufstätigkeit reichlich mit Schweineblut befleckt war, nicht auch Menschenblut befinde. Der Angeschuldigte hatte drei Personen durch Beiliebe getötet, und es konnte angenommen werden, daß er dabei Blutspritzer erhalten hatte.

Es wurden fallende Mengen Menschenserum mit konstanten Mengen Tierseren und umgekehrt fallende Mengen Tierseren mit konstanten Mengen Menschenserum gemischt und mit geringwertigen und hochwertigen Antiseren geprüft. In der Tat zeigte sich, daß eine Beeinflussung der spezifischen Reaktion durch die Beimischung konzentrierteren heterologen Eiweißes insofern stattfindet, als diese gehemmt und geschwächt wird (Versuche mit artspezifischen Antiseren); daß bei Verwendung geringwertigen, nicht artspezifischen Antiserums es nicht immer möglich ist, zu entscheiden, ob die Reaktion als spezifisch angesehen werden kann oder nicht, da sie an Zeit und Stärke nicht die übertrifft, die das reine heterologe Eiweiß in derselben Zeit und in denselben Verdünnungsgraden gibt. Ein Antiserum mit einer Spezifitätsbreite von nur $1/100$ — $1/200$ für homologes und heterologes Eiweiß gab z. B. so viele gleichstarke Reaktionen in nur wenig abweichenden Verdünnungsgraden des homologen und des heterologen Antigens, daß eine sichere Erkennung des Charakters der Reaktion nicht möglich war; daß solche Zweifel und Irrtümer aber niemals entstehen können, wenn das Antiserum hochwertig ($1/30000$ — $1/50000$) ist, und seine Spezifitätsbreite gegenüber dem homologen und heterologen Eiweiß eine größere (mindestens $1/1000$) ist. Dann gibt auch ein nicht artspezifisches Antiserum noch eine eindeutige Reaktion, denn es wirkt noch in Verdünnungen des Artgemisches, die den störenden Einfluß des heterologen Eiweißes ausschalten, ehe die

spezifische Reaktion bis unter die Grenze der Sinnfälligkeit herabgesunken ist.

S a c h s und B a u e r haben versucht, durch Herabsetzung der Antiserumdose auf die Menge, wie sie z. B. für die Komplementbindung benutzt wird, das Auftreten der heterologen Reaktion einzuschränken. Sie gingen dabei von dem Gesichtspunkt aus, daß mit der Verminderung des Antiserumzusatzes die heterologen Partialpräzipitine vermindert würden. Sie erreichten damit jedoch keine wesentliche Besserung des Resultats. Die Reaktion trat sowohl im Artgemisch wie im reinen heterologen Serum später und schwächer auf. Das war zu erwarten, denn in demselben Verhältnis wie die heterologen müssen auch die homologen Partialantikörper vermindert sein, muß die spezifische Reaktion abnehmen; es tritt also nur eine Verschiebung aller Reaktionen nach der negativen Seite auf, die insofern schon nicht günstig sein kann, als ohnehin in Artgemischen die spezifische Reaktion durch das heterologe Eiweiß geschwächt ist.

Eher dürfte ein v e r m e h r t e r Antiserumzusatz bei Artgemischen angebracht sein, denn daß die Bindungsfähigkeiten zwischen präzipitabler Substanz und Präzipitin nicht völlig ausgenutzt werden bei dem gebräuchlichen 10 proz. Zusatz des Präzipitins, beweist die Tatsache, daß nach Ablauf der Reaktion und 24 stündigem Absitzen des Präzipitats stets noch ungebundene Gruppen präzipitabler Substanz in der überstehenden Flüssigkeit durch erneuten Antiserumzusatz nachzuweisen sind (E i s e n b e r g und V o l k , v. D u n g e r n). Durch vermehrten Antiserumzusatz werden diese in höherem Maße erschöpft, die Reaktion tritt schneller und stärker ein. Sie ist dadurch spezifischer geworden, ihre Spezifitätsbreite ist gewachsen, denn eine Steigerung der Bindungsfähigkeiten der viel geringeren heterologen Komponenten ist nicht in demselben Maße zu erwarten. Daß Vermehrung des Präzipitinzusatzes die Reaktion an sich nicht beeinträchtigt, kann ich mit L. M i c h a e l i s bestätigen.

Wie können wir uns nun vor heterologen Übergriffen der Präzipitinsera schützen?

Einmal durch die Vorbehandlung. Seltene Einspritzungen mit mäßigen Serummengen sind häufigen und

größeren Dosen vorzuziehen. Die Vorbehandlung ist mit Serum aus ein und derselben Quelle möglichst zu beenden. Ein Tier, welches nach 4—5 Injektionen nicht ein Antiserum vom Titer 1 : 20 000 gibt, ist forensisch nicht zu verwerten; durch weitere Vorbehandlung läßt sich vielleicht der Titer noch etwas höher treiben, aber die Gefahr heterologen Übergreifens des Antiserums wird immer größer. Die besten Antiseren erhielt ich mit 3—4 seltenen Einspritzungen von Serum aus ein und derselben Quelle: Antiseren von $1/_{50\,000}$ — $1/_{100\,000}$ Wertigkeit bei völliger Spezifität.

Zweitens durch eine sorgfältige Wertigkeitsbestimmung. Ein Antiserum, welches heterolog übergreift, muß nicht nur in homologen Verdünnungsreihen, sondern auch in den in Frage kommenden heterologen Eiweißarten sorgfältig austitriert werden. Man muß nicht nur seine Vorzüge, sondern auch seine Mängel in allen Phasen des Reaktionsablaufes kennen.

Drittens durch Vergleich des Reaktionsablaufes im Untersuchungsantigen mit dem im homologen und heterologen Kontrollserum bzw. Kontrollblut.

Viertens durch Vergleich des Reaktionsablaufes nach Zusatz der Antisera aller in Frage kommenden Blutarten zu dem Antigen.

Endlich fünftens durch Vergleich des Ausfalls des Komplementbindungs- und des Anaphylaxieversuchs mit dem der Präzipitinreaktion.

Die Behinderung der biologischen Reaktion.

Im folgenden sollen nun noch einige Momente besprochen werden, welche die Präzipitinreaktion behindern können.

Natürlich kann es Fälle geben, in denen aus der Spur nicht eine genügend konzentrierte Eiweißlösung zu erhalten ist, um die Reaktion einschließlich der notwendigen Kontrollen anstellen zu können, auch nicht mit den H a u s e r s c h e n Kapillaren und der Komplementbindung: sei es, daß die Spur zu gering ist — das ist selten —, sei es, daß sie durch künstliche oder natürliche Mittel mehr oder weniger zerstört ist —, das ist häufiger der Fall.

Ein Blutfleck kann, solange er noch relativ frisch ist, schon durch reichliches A u s w a s c h e n mit W a s s e r so vollständig entfernt werden, daß keine Spur von ihm zurückbleibt, weder Blutfarbstoff noch Eiweiß. Läßt sich jedoch mit

den geschilderten Einengungsmethoden noch Blutfarbstoff nachweisen, so ist in den meisten Fällen auch noch hinreichend Bluteiweiß, z. B. in den Maschen des Gewebes, für die biologische Reaktion vorhanden. Freilich kann die Auslaugung dann schwierig sein, da größere Mengen des Substrates mit nur wenig NaCl-Lösung beschickt werden dürfen. Da ist sorgfältige Zerkleinerung notwendig.

Die s p o n t a n e F ä u l n i s kann schließlich alle Blutbestandteile zerstören und auch die Eiweißkörper so denaturieren, daß sie nicht mehr nachzuweisen sind. Auch das ist sehr selten der Fall. Nach den Erfahrungen anderer (N u t t a l l, U h l e n - h u t h und seine Mitarbeiter, Z i e m k e, B i o n d i, G r a h a m - S m i t h und S a n g e r) und meiner eigenen ist selbst Jahre altes hochgradig faules Blut der Präzipitinreaktion und auch der Komplementbindungsmethode noch zugänglich. Bei der Präzipitinreaktion macht die Klärung des Extraktes zuweilen Schwierigkeiten; B e r k e f e l d t filtration, u. U. mehrmalige, ist hier nicht zu umgehen.

Zerstörender wirken C h e m i k a l i e n dadurch, daß sie schneller den Zerfall der Eiweißkörper herbeiführen.

An dem Kleidungsstück eines Knechtes, der an einer Messerstecherei beteiligt war, Blutspritzer erhalten, aber bald nachher ausgewaschen hatte, worauf er noch den ganzen folgenden Tag Dungsalpeter fuhr, ließ sich noch Blut, aber nicht die Blutart feststellen. Die Kleider waren über und über mit dem weißlichen Salpeterpulver bedeckt. Dieses beeinflusste offenbar die biologische Reaktion in höchst ungünstiger Weise. (26. 5. 08.)

Wie starke Säuren wirken auch starke Alkalien zersetzend (Kaliseife), doch ist da gewiß der Einfluß des kochendheißen Waschwassers meist höher zu veranschlagen; ferner Gerbstoffe, Chlorkalk, nicht aber Kalk (Z i e m k e), CO (Z i e m k e). Behinderung der Präzipitinreaktion fanden d i M a t t e i, G r a h a m - S m i t h und N u t t a l l durch Formalin, Sublimat, Lysol, Lysoform, Kupfersulfat, Eisensulfat, Silbernitrat, Phenol, Quecksilberchlorid, Thymol, Kalipermangan, Zinkchlorid und Rost. Außer letzterem hat wohl keines dieser Agenzien größere praktische Bedeutung.

Was das A l t e r d e s B l u t f l e c k e n s betrifft, so macht sich dessen Einfluß auf die biologische Reaktion nur insofern geltend, als die Auslaugung stark eingetrockneter alter Spuren

auf Schwierigkeiten stößt. Z i e m k e konnte 25 Jahre alte, G r a h a m - S m i t h 30 und U h l e n h u t h 60 Jahre alte Blutspuren, die auf den verschiedensten Unterlagen angetrocknet waren, biologisch noch differenzieren. Die Untersuchung von Mumien hat indes nicht zu übereinstimmenden Ergebnissen geführt. Von besonderem Interesse ist noch, daß Z i e m k e alte Blutspuren, die in Kochsalzlösung unlöslich waren, in Cyankalilösung löste, den erhaltenen Extrakt mit Weinsteinsäure neutralisierte, mit Kochsalzlösung verdünnte und mit ihm eine prompte biologische Reaktion erhielt.

Eingehende Studien sind über den Einfluß der E r h i t z u n g der B l u t s p u r auf den Ausfall der biologischen Reaktion angestellt worden (F e r r a i, N u t t a l l, M o d i c a, B i o n d i, U h l e n h u t h und B e u m e r, L ö f f l e r, W. A. S c h m i d t u. a.). Nach F e r r a i und B i o n d i tritt nach einstündiger Erhitzung trockenen Blutes auf 130° überhaupt keine Reaktion mehr auf; die Eiweißkörper sind völlig zerstört. Bei 140° genügen 20 Minuten, bei 150° 10, bei 160° 5 Minuten. Dagegen sah S c h m i d t nur Verzögerung der Reaktion und der Flockenbildung bei zweistündigem Erhitzen auf 110°, bei einstündigem auf 130°; während erst einhalbstündiges auf 150° völlig zerstörte.

Die theoretischen Untersuchungen, deren Ergebnisse übrigens nur wenig differieren, können für die Praxis nur den Wert allgemeiner Anhaltspunkte haben und jedenfalls nicht in dem Sinne verwandt werden, daß aus dem Ausbleiben der Reaktion etwa auf die Länge und die Stärke der Erhitzung ein Rückschluß gemacht werden kann. Es kommt dabei natürlich viel auf die Angriffsfähigkeit des Substrates an. Aus diehten blutbefleckten (trocknen) Stoffen, die über der Flamme verkohlt wurden, konnte ich — aus den inneren weniger angegriffenen Partien — Fasern herauszupfen, die dem Nachweis des Blutes und der Blutart noch zugänglich waren. Ganz anders wirkte die Hitze, wenn ein blutbeflecktes Messer oder Blech durch die Flamme gezogen wurde. Hier kam die Zerstörung begreiflicherweise viel schneller zustande.

Deletärer als auf trockne ist der Einfluß der Erhitzung auf flüssige oder feuchte Blutobjekte im Versuch (T c h i s t o v i t c h, M ü l l e r, M e y e r s, S c h ü t z e, B o r d e t - V a l l é e). Aber auch hier sind die Ergebnisse nicht völlig über-

einstimmend. Nach G r a h a m - S m i t h genügt 3 Minuten langes Erhitzen von Blutserum auf 64°, um die Reaktion zu hemmen, nach S c h m i d t dagegen stört 30—60 Minuten langes Erhitzen auf 70° fast gar nicht, und einstündiges auf 90° verursachte nur eine starke Verzögerung und Schwächung der Reaktion in stark verdünnter Eiweißlösung. Die Stärke der Reaktion hing jedoch ganz wesentlich von der Wertigkeit des Antiserums ab. Die letztere Angabe stimmt mit der E i s e n - b e r g s überein, wonach eine wäßrige Eiweißlösung nicht mehr präzipitiert wird nach einstündigem Erhitzen auf 78°; das heißt, es trat zwar Bindung des Präzipitins ein, aber kein Niederschlag.

Die Versuche mit e r h i t z t e m A n t i s e r u m , getrocknetem und flüssigem, die im wesentlichen dasselbe Resultat ergaben, haben lediglich wissenschaftliches Interesse.

Dagegen ist von praktischem Wert, daß es gelungen ist, durch Immunisierung mit erhitztem Serum Präzipitinsera zu erzeugen, die in erhitzten Eiweißlösungen eine kräftigere Reaktion auslösten als in nativen, die also auf Hitzeiweiß spezifisch wirkende Hitzeantikörper enthielten. 70 gradiges Hitzeantiserum löste in 80—100 gradigem einstündig erhitztem Hitzeiweiß volle Reaktion aus (W. A. S c h m i d t , O b e r m a y e r und P i c k). Die Artspezifität bleibt im Hitzeantiserum erhalten (O b e r - m a y e r , P i c k).

Die Erythropräzipitinreaktion.

Den Schluß dieser Besprechung der Präzipitinreaktion mögen noch einige Betrachtungen über die neueren Versuche bilden, die Spezifität der Präzipitinreaktion dadurch zu erhöhen, daß sie auf eine anderer Basis gestellt wird.

Bei seinen Studien über Agglutinine und Präzipitine, bei welchen er mit den getrennten Bestandteilen des Blutes, mit Blutserum, Erythrozyten, Hämoglobinlösungen und Stromata immunisierte, gelangte A. K l e i n - W i e n u. a. zur Abgrenzung der E r y t h r o p r ä z i p i t i n e von den Serumpräzipitinen.

Schon vorher waren Immunisierungsversuche mit dem gelösten Inhalt der Erythrozyten mit wechselndem Erfolg gemacht worden (N o l f , B o r - d e t , v. D u n g e r n , S t e w a r t , F o r d und H a l s e y , N a g e l - s c h m i d t , C e n t a n n i , L e v e n e , B a t e l l i u. a.).

A. Klein behandelte je ein Kaninchen mit dem Extrakt von Erythrozyten des Menschen, des Pferdes und des Rindes vor und erhielt Antisera, die spezifisch für die zur Vorbehandlung benutzten Blutarten waren, aber gleichzeitig auch spezifisch für Blut, da sie nur in den Blutextrakten, nicht aber in den Blutseren der betreffenden Arten einen Niederschlag gaben.

Es ist klar, wenn es gelingt, ein Präzipitinserum mit dem charakteristischen Repräsentanten des Blutes, dem Rotfarbstoff, zu erzeugen, welches ausschließlich mit Hämoglobinlösungen durch Präzipitation reagiert, daß dann sich der Blutnachweis nicht nur vereinfachen, sondern auch sicherer gestalten würde. Denn jetzt müssen wir unser Urteil auf die Kombination des Ausfalls zweier getrennter Untersuchungen (auf Blut und Blutart) gründen.

Der zweifellos forensische Wert dieser Entdeckung rechtfertigt eine Prüfung der Erythropräzipitine von forensischen Gesichtspunkten aus.

Es gelingt in der Tat, Kaninchen mit Hämoglobinlösungen zu immunisieren. Von elf wie folgt von mir vorbehandelten Tieren gaben drei mäßig kräftige, aber art- und organspezifische Erythropräzipitinsera.

Die zur Immunisierung erforderlichen Erythrozytenextrakte werden in folgender Weise bereitet: Eine bestimmte Menge möglichst frischen und mit sterilen Gefäßen aus dem Herzen entnommenen defibrinierten Leichenblutes wird mit der zehnfachen Menge 0,85 proz. Kochsalzlösung versetzt und die Blutkörperchen in der Zentrifuge serumfrei gewaschen. Da hierauf alles ankommt, die Organspezifität hiervon abhängt, werden diese Waschungen so oft erneuert, bis die Waschflüssigkeit völlig eiweißfrei ist (Ferricyankaliprobe und biologische Probe). Nach Abpipettierung derselben und Absaugung des letzten Restes mittels Fließpapiers werden die sedimentierten Blutkörperchen in der 3—4 fachen Menge destillierten Wassers unter Schütteln gelöst, die Lösung durch Zusatz von 8,5 proz. Kochsalzlösung im Verhältnis 9:1 auf physiologischen Gehalt gebracht und lange und stark zentrifugiert. Die Sedimentierung der Stromata muß eine vollständige, der Extrakt absolut klar und stromatafrei sein. Er dient zur Einspritzung. Ist er steril bereitet, hält er sich ohne Zusatz wochenlang, wobei er allerdings stark nachdunkelt.

Die Kaninchen erhielten davon je 20 ccm intraperitoneal in Abständen von 1—3 Wochen, je nach ihrem körperlichen Befinden, oder je 2,0 ccm wöchentlich intravenös. Die Tiere vertrugen die Einspritzungen, obschon im Anfang Abmagerung eintrat, gut, es ging kein Tier verloren.

Die Hb-Lösung menschlicher Blutkörperchen ist also für Kaninchen nicht toxisch, eine Ergänzung der Erfahrungen B a t e l l i s , der die von Hund, Rind, Katze und Kaninchen ebenfalls nicht toxisch fand für Kaninchen, wohl dagegen die von Schwein, Hammel, Ratte als solchen Tieren, auf deren Erythrozyten Kaninchenserum hämolytisch wirkte.

Von der dritten Injektion ab wurden aus dem Ohr Blutproben entnommen und das Serum auf Wertigkeit, Art und Organspezifität geprüft an den zur Einspritzung benutzten Extrakten, an hämoglobinfreiem (!) Blutserum, an Sperma und eitrigem Sputum sowie an zahlreichen aus Tierblut und forensischen Objekten bereiteten Extrakten. Diese letzteren wurden mit destilliertem Wasser zur möglichst völligen Auslaugung des Blutfarbstoffes extrahiert und durch Zusatz von gleichen Teilen 1,7 proz. Kochsalzlösung auf physiologischen Gehalt gebracht; die weiteren Verdünnungen wurden dann durch physiologische Kochsalzlösung hergestellt.

Alle Extrakte wurden klar zentrifugiert und durch B e r k e f e l d t kerze geschickt, denn die Erythropräzipitinsera agglutinieren stürmisch. Außerdem wurden sie, um die Agglutininwirkung auszuschließen, mikroskopisch öfters im hängenden Tropfen auf Stromatafreisein geprüft.

Die erhaltenen Erythropräzipitinsera hatten folgende Werte:

Antiserum g gab noch in Blutfarbstoffverdünnung aus Menschenblut von 1 : 15000 innerhalb 20 Minuten, in der Hb-Verdünnung 1 : 2500 schon in 5 Minuten eine kräftige Fällung.

Antiserum h: in der Hb-Verdünnung 1 : 2500 in 10 Minuten deutliche, in 20 Minuten starke Fällung.

Antiserum k: in der Hb-Verdünnung 1 : 5000 in 20 Minuten starke Reaktion.

An zahlreichen Kontrollen wurde die Art- und Organspezifität dieser Antiseren erwiesen.

Voraussetzung für die Verwendung der Erythropräzipitinmethode in der forensischen Praxis ist vor allem, daß der Blutflecken nicht zu alt ist, und mit destilliertem Wasser noch genügend

Blutfarbstoff sich auslaugen läßt. Immerhin ist das Alter noch weniger störend als die Geringfügigkeit der Spur. Selten kommen ja Spuren zur Untersuchung, die älter als Tage bis wenige Wochen sind; dagegen sind sie oft so gering, daß sich eine für die Erythropräzipitinmethode genügend konzentrierte Blutfarbstofflösung nicht mehr erhalten läßt, auch nicht bei Verwendung der Kapillarmethode. Diese hat sich im übrigen auch bei dieser Methode bewährt. In stärkeren Blutlösungen hebt sich bekanntlich die Präzipitationstrübung wegen der Rötung wenig ab, so daß schwache Trübungen nur schwer zu erkennen sind. In der dünnen Kapillarschicht dagegen stört die Rötung nicht, und auch schwächere Präzipitate heben sich hier deutlich ab.

In manchen Fällen kann es von Nutzen sein, den Ausfall der Serumpräzipitinreaktion durch die Erythropräzipitinreaktion bestätigt zu sehen. Besonders empfiehlt sich dies bei der Untersuchung von Artgemischen, da Organspezifität bei den Erythropräzipitinen sich aus naheliegenden Gründen leichter erreichen läßt.¹⁾

Um beide Reaktionen mit demselben Extrakt nebeneinander anzustellen, wäre die Blutspur in destilliertem Wasser zu lösen, damit möglichst viel Blutfarbstoff in die Lösung geht, und diese dann durch Zusatz von 1,7 proz. Kochsalzlösung auf physiologischen Kochsalzgehalt zu bringen.

Weitere Immunisierungsversuche werden zeigen müssen, ob sich die Grenzen, die die Anwendung der Erythropräzipitine hat, erweitern lassen, also vor allem, ob sich die Wertigkeit der Seren höher treiben läßt. Daß der Nachweis des Blutfarbstoffes und die bewährte Serumpräzipitinreaktion und Komplementbindung zum Nachweis der Blutart zurzeit die Grundlagen unserer forensischen Begutachtungen sind, brauche ich nicht besonders zu betonen.

Die biologische Untersuchung der Fleischarten und der Nahrungsmittel,

welche die am 1. 4. 1908 in Kraft getretenen Ausführungsbestimmungen D zum Fleischbeschaugesetz vorschreiben, weicht in ihrer Technik im wesentlichen nicht von der biologischen Blutdifferenzierung ab, da es sich ja auch hier um den Nachweis

¹⁾ Die Organspezifität der Erythropräzipitine hat H. Pfeiffer vor kurzem auch durch den Anaphylaxieversuch bewiesen.

des in die Auslaugeflüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung) übergegangenen Eiweißes vermittelt des spezifisch wirkenden Antiserums handelt. Die Bereitung und Prüfung dieses Antiserums auf seine Wertigkeit sowie die Ausführung und Beurteilung der Präzipitinreaktion in einem Fleischauszug ist also dieselbe, wie ich sie oben dargestellt habe. Lediglich die Bereitung des eiweißhaltigen Extraktes ist dem Objekt entsprechend eine andere.

Die Ausführungsbestimmungen geben dazu die folgende Vorschrift: „Zur Ausführung der biologischen Untersuchung auf Pferdefleisch und anderes Einhuferfleisch sind mit einem ausgeglühten oder ausgekochten Messer aus der Tiefe des verdächtigen Fleischstückes etwa 30 g Muskelfleisch, möglichst ohne Fettgewebe, von einer frisch hergestellten Schnittfläche zu entnehmen und auf einer ausgekochten, mit ungebrauchtem Schreibpapier bedeckten Unterlage durch Schaben mit einem ausgekochten Messer zu zerkleinern. Die zerkleinerte Fleischmasse wird in ein ausgekochtes oder sonst durch Hitze sterilisiertes etwa 100 ccm fassendes Erlenmeyersches Kölbchen gebracht, mit Hilfe eines ausgekochten, sterilisierten Glasstabes gleichmäßig verteilt und mit 50 ccm sterilisierter 0,85 proz. Kochsalzlösung übergossen. Gesalzenes Fleisch ist zuvor in einem größeren sterilisierten Erlenmeyerschen Kolben zu entsalzen, indem man es mit sterilisiertem Wasser übergießt und letzteres, ohne zu schütteln, während 10 Minuten mehrmals erneuert. Das Gemisch von Fleisch und 0,85 proz. Kochsalzlösung bleibt zur Ausziehung der im Fleische vorhandenen Eiweißsubstanzen etwa drei Stunden bei Zimmertemperatur oder über Nacht im Eisschrank stehen und darf, um eine klare Lösung zu erhalten, nicht geschüttelt werden.“

Die Klärung etwa trüben Extraktes mittels Filtration durch gehärtetes Papierfilter oder Berkfeldtsche Kieselgurkerze erfolgt in der oben für die Behandlung des Blutextraktes angegebenen Weise; ebenso die Prüfung, ob die erforderliche Menge Eiweiß in Lösung gegangen ist. Diese soll nach Uhlénhuth 1 : 300 sein, da eine Verdünnung der Fleischlösung von 1 : 300 dieselbe biologische Reaktion zeigt wie eine Serumverdünnung von 1 : 1000. Das Filtrat soll auch hier neutral, schwach sauer oder schwach alkalisch reagieren, eventuell ist mit 0,1 proz. Sodalösung oder mit Magnesiumoxyd zu neutralisieren.

Bei der Untersuchung auf Pferdefleisch sind stets Kontrollen aus Pferde-, Schweine- und Rindfleisch anzustellen, deren Lösungen in derselben Weise zu bereiten sind, und die denselben Konzen-

trationsgrad 1 : 300 haben müssen wie der zu prüfende Fleischauszug.

Während heterologe Trübungen, wenn das Antiserum genügend artspezifisch ist, sich hier ebensowenig störend bemerkbar machen werden wie bei der Blutuntersuchung, müssen die Verwandtschaftsreaktionen berücksichtigt werden. Pferde-, Esel-, Maulesel- und anderer Einhufer-Fleisch mittels der biologischen Reaktion zu unterscheiden, ist nicht möglich (U h l e n h u t h).

Auch bei gefrorenem, getrocknetem, geräuchertem, gepökelt, gekochtem und gebratenem Fleisch hat die biologische Reaktion Erfolg; bei letzterem zeigte sich allerdings die Komplementbindungsmethode und der Anaphylaxieversuch überlegen (U h l e n h u t h).

Im übrigen sei, was die Fleischuntersuchung anbetrifft, auf die zahlreichen Veröffentlichungen der U h l e n h u t h schen Schule verwiesen.

Die Komplementbindungsmethode (Hämolyse).

Unter H ä m o l y s e versteht man den Austritt des Häoglobins aus den roten Blutkörperchen. Wenn durch irgendwelche Einflüsse das Blutkörperchen zerstört, seine Membran (Stroma) durchlässig wird, geht der Blutfarbstoff ins Serum über, das Blut wird lackfarben. Außer dem bekanntesten Stoff, dem destillierten Wasser, besitzen zahlreiche chemische Substanzen und Gifte sowie Bakterien die Eigenschaft zu hämolysieren. Wie ich schon bei der Besprechung der Agglutination erwähnt habe, hat nicht nur das Normalserum vieler Tiere hämolytische Wirkung auf die Erythrozyten anderer Arten, sondern es lassen sich auch künstlich durch Immunisierung von Tieren Hämolysine erzeugen. B e l f a n t i und C a r b o n e waren die ersten, die 1898 durch Injektion fremden Tierblutes ein hämolysierendes Immunserum vom Pferd erhielten, welches für die zur Immunisierung benutzte Blutart (Kaninchen) spezifisch war. Allerdings mit derselben Einschränkung wie bei den Präzipitinen, d. h. zwischen den Reaktionen im Blut verwandter Arten bestehen nur quantitative Unterschiede (Gruppenreaktion).

B o r d e t und die E h r l i c h s c h e Schule stellten 1899 fest, daß die Wirkung der Immunhämolysine auf zwei verschiedenen Komponenten beruhe, die sie **Komplement** und **Ambozeptor** nannten. Ersteres ist auch im Normalserum vorhanden und thermolabil, d. h. durch halbstündiges Erwärmen des Immunsersums auf 55° zu zerstören; letzterer, nur im Immuns serum enthalten, ist thermostabil, überdauert diese Erwärmung. Durch die Zerstörung des Komplementes ist das hämolytische Immuns serum aus dem aktiven in den inaktiven Zustand übergegangen, es hat seine Wirkung eingebüßt. Durch Zusatz komplementhaltigen N o r m a l s e r u m s kann es reaktiviert werden, es wirkt wieder hämolytisch.

Die Wirkungsweise dieser beiden Komponenten kann man sich nach E h r l i c h und M o r g e n r o t h so vorstellen, daß der Ambozeptor (Zwischenkörper, Immunkörper, Substance sensibilisatrice) das Zwischenglied zwischen Blutkörperchen und Komplement bildet und dadurch erst dem Komplement (Alexin) die Möglichkeit gibt, die Auflösung des Blutkörperchens zu bewirken. Die Verbindung der zytophilen Gruppe des Ambozeptors mit dem Blutkörperchen findet schon in der Kälte statt, die der komplementophilen Gruppe mit dem Komplement erst bei höherer Temperatur, bei 37 ° C. Alle diese Tatsachen bilden die Grundlage für den Komplementbindungsversuch.

Der erste, der die Hämolysine für den forensischen Blutnachweis zu verwerten suchte, war D e u t s c h (1900). Er injizierte Kaninchen defibriniertes Menschenblut und gewann sieben Tage nach der dritten Injektion ein Serum, welches menschliche rote Blutkörperchen auflöste. Den forensischen Blutflecken löste er in physiologischer Na Cl-Lösung, der er 0,2 % Phenol zusetzte, auf, pipettierte die erhaltene Lösung, die die Blutkörperchen aufgeschwemmt enthielt, in ein Röhrchen und mischte drei Teile derselben mit einem Teil des hämolytischen Antiserums. Zur Kontrolle wurde Extrakt allein und Extrakt mit einem Tierblut hämolysierenden Serum in zwei andere Röhrchen gebracht. Alle drei Röhrchen kamen 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° C. War in dem ersten völlige Hämolyse eingetreten, in den beiden anderen die Blutkörperchen ungelöst, so war die Blutspur Menschenblut.

D e u t s c h wies schon selbst auf die Grenzen dieser seiner Methode der Blutdifferenzierung hin. Der hauptsächliche Hinderungsgrund ist der, daß die Blutkörperchen beim Eintrocknen der Blutspur bald zerstört werden, es also nicht möglich ist, aus älteren Blutflecken eine genügende Zahl intakter roter Blutkörperchen zu erhalten.

Aus den Versuchen von B o r d e t - G e n g o u (1902) und M o r e s c h i (1905) ging weiterhin das Gesetz hervor, daß ein tierisches Eiweißantigen durch Vermittelung seines s p e z i f i s c h e n Antikörpers (Ambozeptor) die Fähigkeit erhält, beliebiges Komplement an sich zu reißen, zu binden; daß dagegen, wenn der Ambozeptor für das Antigen n i c h t s p e z i f i s c h ist, die Vereinigung der drei Körper oder Kräfte aus-, das Komplement freibleibt.

Ob das Komplement gebunden oder freigeblieben ist, wird durch Zusatz eines hämolytischen Systems (Blutkörperchen samt dem auf sie hämolytisch wirkenden Ambozeptor) erkannt. Lösen sich die Blutkörperchen auf, wird die Mischung lackfarben, so blieb das Komplement frei zur Komplettierung der hämolytischen Verbindung Blutkörperchen + hämolytischer Ambozeptor: das Antigen war dem Antikörper nicht homolog. (Fig. 25.)

Bleibt die Auflösung der Blutkörperchen aus, das Blut deckfarben, so war das Komplement gebunden worden an Antikörper und Antigen: der Antikörper hat homologes Antigen gefunden; war er z. B. auf Menschenblut eingestellt, so ist auch das Antigen Menschenblut. (Fig. 26.)

Es ist anzunehmen, aber noch nicht erwiesen, daß bei dem Zusammentritt von spezifischem Ambozeptor und Antigen, wodurch Komplement gebunden wird, auch Präzipitation stattfindet.

Diese B o r d e t - G e n g o u s c h e K o m p l e m e n t b i n d u n g s m e t h o d e haben N e i ß e r und S a c h s 1905 für die Bluteiweißdifferenzierung in der forensischen Praxis neben der Präzipitinmethode empfohlen. B a u e r dehnte sie auf die Milchsäurebakteriendifferenzierung, den Nachweis von Milchverfälschungen aus. Die U h l e n h u t h s c h e Schule machte sie in ausgedehntem Maße für die Nahrungsmittelkontrolle, insbesondere für die Fleischschau nutzbar.

Zu der Neißer-Sachsschen Blutdifferenzierung ist erforderlich:

1. Das Antigen: der Extrakt mittels physiologischer Kochsalzlösung (aus chemisch reinem NaCl bereitet!) aus dem zu untersuchenden Blutflecken, der nicht so klar zu sein braucht wie zur Präzipitinreaktion.

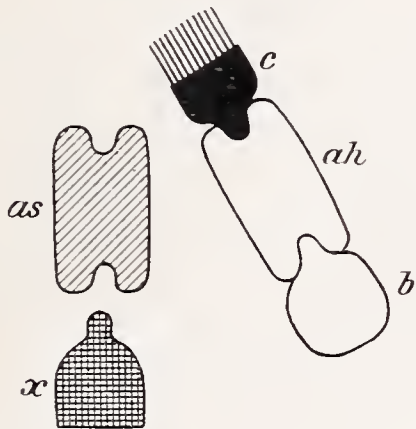


Fig. 25.

c = Komplement. as = spezifischer (Menschenblut-) Ambozeptor.
 ah = hämolytischer Ambozeptor.
 x = Antigen (Tierblut). b = Hammelblutkörperchen. — Hämolyse!
 Keine Komplementbindung!

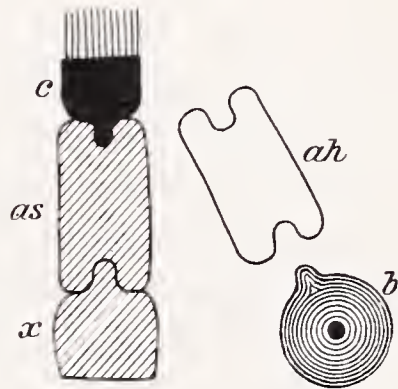


Fig. 26.

c = Komplement. as = spezifischer (Menschenblut-) Ambozeptor.
 ah = hämolytischer Ambozeptor.
 x = Antigen (Menschenblut).
 b = Hammelblutkörperchen. — Keine Hämolyse! Komplementbindung!

2. Der auf die nachzuweisende Blutart eingestellte spezifische Ambozeptor, enthalten in dem spezifisch wirkenden Antiserum. Dasselbe wird wie zur Präzipitinreaktion bereitet und vor dem Versuch durch halbstündiges Erwärmen auf 55° inaktiviert. Der Titer dieses Antiserums ist in der früher geschilderten Weise festzustellen. Es soll hochwertig und artspezifisch, braucht aber nicht absolut klar zu sein.

3. Das Komplement: enthalten im Normalserum des Meerschweinchens. Das Tier wird durch Halsschnitt oder in die Brusthöhle entblutet, das Blut sofort zentrifugiert zur Abscheidung des Serums. Die hämolytischen Komplemente der Normalsera werden rasch unwirksam, selbst auf Eis gehalten, bleibt das Serum nur 2—3 Tage wirksam; etwas länger in eingefrorenem Zustande (Frigo-Apparat).

4. Blutkörperchen als Testobjekt oder Indikator: es wird benutzt eine 5 proz. Aufschwemmung von serumfrei gewaschenen Hammelblutkörperchen in physiologischer NaCl-

Lösung. Eine abgemessene Menge (5—10 ccm) defibrinierten Hammelblutes wird in sterilem K lbehen, nachdem die Standhöhe mit Fettstift am Glas markiert ist, mit der 10—20 fachen Menge steriler physiologischer Na Cl-Lösung geschüttelt, zentrifugiert, die Fl ssigkeitsseicht von den sedimentierten Blutkörperchen abgossen, noch ein- oder zweimal in derselben Weise mit Na Cl-Lösung aufgefüllt, sedimentiert und die Waschflüssigkeit abgossen bzw. bis auf den letzten Rest mit Fließpapier abgesaugt; schließlich Na Cl-Lösung bis zu der Marke am Glase aufgefüllt, also bis zu der ursprünglichen Blutmenge. 5,0 ccm von dieser zu 95,0 ccm Cl Na-Lösung geben die 5 proz. Aufschwemmung. Auch diese Testlösung hält sich auf Eis nur einen Tag lang, dann tritt spontane Hämolyse ein. — An Stelle der Hammelblutkörperchen können auch Rinderblutk rperchen gewählt werden.

5. Der auf Hammelblutkörperchen (oder Rinderblutk rperchen) hämolytisch wirkende **A m b o z e p t o r**. Obwohl schon im Normalserum, z. B. Kaninchenserum, Hämolysine für Hammelblutkörperchen enthalten sind, ist die Benutzung künstlichen Ambozeptors vorzuziehen. Er vermeidet Fehlerquellen, ist wirksamer und exakter zu dosieren und auch zuerst von **N e i   e r - S a e h s** vorgeschlagen worden. Er wird vom Kaninehen gewonnen, dem 3—4 mal je 1 ccm defibriniertes Hammel- oder Rinderblut oder nach **U h l e n h u t h** besser je 2—5 ccm einer 5 proz. Aufschwemmung der gewaschenen Blutkörperchen intravenös oder intraperitoneal einverleibt wird ¹⁾. Das gewonnene Ambozeptorserum ist zu inaktivieren, d. h. von dem darin enthaltenen Komplement durch halbstündiges Erwärmen auf 55⁰ (nicht höher!) zu befreien.

Gang der forensischen Blutuntersuchung mittels der Komplementbindung.

Dem eigentlichen Versuch muß eine Reihe von **T i t e r - b e s t i m m u n g e n** vorausgehen, die zunächst besprochen werden sollen.

I. Außer der schon erwähnten Titerbestimmung des spezifischen Antiserums muß auch der Titer d e s hämolytischen

¹⁾ Wegen der drohenden Hämolyse im Tierkörper wird nur die erste Injektion intravenös, die folgenden intraperitoneal gegeben.

A m b o z e p t o r s e r u m s und zwar die kleinste komplett lösende Dosis desselben für 1 ccm der 5 proz. Hammel-Blutkörperchen Aufschwemmung, festgestellt werden. In eine Reihe von Reagenzröhrchen kommen absteigende Mengen des inaktiven Ambozeptorserums + 1 ccm der 5 proz. Hammel-Blutkörperchen-Aufschwemmung + 0,1 ccm Meerschweinchen-Komplement. Als Kontrolle eine Probe ohne Ambozeptorserum und eine ohne Komplement.

Diese Bestimmung zeigt Tabelle I.

In die Röhrchen wird soviel Kochsalzlösung zugegeben, daß in jedem 2,0 ccm, also gleichviel Inhalt ist. Sie kommen 2 Stunden bei 37° in den Brutschrank; 0,00075 hat nach dieser Zeit noch komplett, 0,0005 fast komplett gelöst. Als Ambozeptorzusatz wird zum Hauptversuch die 1½- bis 2fache komplett lösende Dosis genommen, also 0,001 ccm oder 0,1 ccm der Verdünnung 1/100.

T a b e l l e I.

Austitrierung des hämolytischen Ambozeptors.

Ambozeptor ccm	Kom- plement ccm	5 % Hammel- Blut ccm	Hämolyse
0,01 = 0,1 der Verd. 1/10	0,1	1,0	komplette
0,005 = 0,5 „ 1/100	0,1	1,0	„
0,0025 = 0,25 „ „	0,1	1,0	„
0,0015 = 0,15 „ „	0,1	1,0	„
0,001 = 0,1 „ „	0,1	1,0	„
0,00075 = 0,75 „ 1/1000	0,1	1,0	„
0,0005 = 0,5 „ „	0,1	1,0	fast komplette
0,00025 = 0,25 „ „	0,1	1,0	starke
0,00015 = 0,15 „ „	0,1	1,0	„
0,0001 = 0,1 „ „	0,1	1,0	mäßige
0,01 = 0,1 „ 1/10	—	1,0	keine
—	0,1	1,0	„

II. Sodann wird die im vorigen Versuch auf 0,1 ccm geschätzte Dosis des Komplementserums genauer festgestellt, d. h. die Dosis, die mit der gefundenen Testmenge des Ambozeptorserums (0,001) 1 ccm der Hammel-Blutkörperchen-Aufschwemmung gerade noch komplett löst. Es kommen in eine

Reihe Reagenzröhrchen absteigende Mengen Komplementserum + die Testdosis Ambozeptor (0,001) + 1 ccm Hammel-Blutkörperchen-Aufschwemmung wie in Tab. II.

Die Röhrchen sind wieder auf die gleiche Inhaltsmenge zu bringen und kommen wieder 2 Stunden in den Brutschrank. Die komplett noch lösende kleinste Dosis ist 0,06. Die $1\frac{1}{2}$ - bis 2 fache Dosis davon etwa 0,1 ccm.

Demnach besteht das zum Hauptversuch zu verwendende hämolytische System aus: 0,001 ccm Ambozeptor + 0,1 ccm Komplement + 1,0 ccm 5 proz. Hammel-Blutkörperchen-aufschwemmung.

T a b e l l e II.
Austitrierung des Komplements.

Komplement ccm d. Verd. $\frac{1}{10}$	Ambozeptor ccm d. Verd. $\frac{1}{100}$	5 % Hammel-Blut ccm	Hämolyse
0,1	0,1	1,0	komplette
0,09	0,1	1,0	„
0,08	0,1	1,0	„
0,07	0,1	1,0	„
0,06	0,1	1,0	„
0,05	0,1	1,0	fast komplette
0,04	0,1	1,0	starke
0,03	0,1	1,0	mäßige
0,02	0,1	1,0	„
0,01	0,1	1,0	sehr geringe

III. Da ein Überschuß des spezifischen Antiserums anti-komplementär wirken kann, muß die für den Hauptversuch geeignete Dosis gesucht werden, d. h. der Verdünnungsgrad des Antiserums, welcher noch imstande ist, mit dem homologen Antigen die Hämolyse in dem oben fixierten System zu verhindern, zu hemmen. Da das Antiserum mindestens die Wertigkeit 1 : 10 000 haben soll, so ist eine Verdünnung des Antigens nicht unterhalb $\frac{1}{10\,000}$ zur Prüfung zu nehmen.

Absteigende Mengen des Antiserums werden also mit $\frac{1}{10\,000}$ verdünntem Antigen und der Komplementdosis gemischt, alle Röhrchen mit Kochsalzlösung auf gleiche Inhaltsmenge gebracht und 1 Stunde bei 37° gehalten. Inzwischen tritt die Bindung der

3 Körper ein. Sodann erfolgt der Zusatz von 1,0 ccm der 5 proz. Hammel-Blutkörperchen-Aufschwemmung + 0,001 ccm Ambozeptor. Nach weiteren 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank wird das Resultat festgestellt (Tabelle III a).

Tab. III b wird angelegt, um zu prüfen, ob das Antiserum nicht allein schon hemmt.

Tab. III c enthält 3 weitere Kontrollen zur Prüfung:

α) ob das Normalserum nicht allein schon hemmt;

β) ob das hämolytische System funktioniert;

γ) ob die Cl Na-Lösung isotonisch ist und nicht hämolytisch wirkt.

T a b e l l e III a.

Austitrierung der Antiserummenge.

Menschen-Antiserum ccm d. Verd. $\frac{1}{10}$	Menschen-Normalserum ccm d. Verd. $\frac{1}{1000}$	Komplement ccm	Ambozeptor ccm	Hammel-Blut ccm	Hämolyse
1,0	0,1	0,1	0,001	1,0	Spürchen
0,75	0,1	0,1	0,001	1,0	„
0,5	0,1	0,1	0,001	1,0	—
0,35	0,1	0,1	0,001	1,0	—
0,25	0,1	0,1	0,001	1,0	—
0,2	0,1	0,1	0,001	1,0	Spur
0,15	0,1	0,1	0,001	1,0	Spürchen
0,1	0,1	0,1	0,001	1,0	„

T a b e l l e III b. (Kontrollen.)

1,0	—	0,1	0,001	1,0	komplette
0,75	—	0,1	0,001	1,0	„
0,5	—	0,1	0,001	1,0	„
0,35	—	0,1	0,001	1,0	„
0,25	—	0,1	0,001	1,0	„
0,2	—	0,1	0,001	1,0	„
0,15	—	0,1	0,001	1,0	„
0,1	—	0,1	0,001	1,0	„

T a b e l l e III c. (Kontrollen.)

α)	—	0,1	0,1	0,001	1,0	„
β)	—	—	0,1	0,001	1,0	„
γ)	—	—	—	—	1,0	ungelöst

Auch diese Röhrchen werden alle auf gleiche Menge gebracht. Der Zusatz von Hammelblut + Ambozeptor erfolgt ebenfalls nach einstündigem Brutschrankaufenthalt. Die gerade noch komplett hemmende kleinste Dosis des Antiserums beträgt 0,025. Für den Hauptversuch wählt man eine Menge, die nur wenig diese Dosis übersteigt, etwa 0,03 ccm oder 0,3 ccm der $\frac{1}{10}$ Verdünnung des Antiserums.

IV. D e r H a u p t v e r s u c h :

In eine Reihe Reagenzröhrchen kommt die gefundene Testmenge Komplementserum (0,1 ccm) + die des spezifischen Antiserums (0,03 ccm) + absteigende Mengen des zu untersuchenden Antigens, also des Kochsalzextraktes aus der Blutspur in der Verdünnung 1 : 1000 bis 1 : 10000 (Tab. IV A).

Tab. IV B prüft, ob das Antigen nicht allein schon hemmt.

T a b e l l e IV A. Hauptversuch.

Extrakt ccm d. Verd. $\frac{1}{1000}$	Menschen- Antiserum ccm	Komplement ccm	Ambozeptor ccm	Hammel-Blut ccm
1,0	0,03	0,1	0,001	1,0
0,75	0,03	0,1	0,001	1,0
0,5	0,03	0,1	0,001	1,0
0,25	0,03	0,1	0,001	1,0
0,1	0,03	0,1	0,001	1,0

T a b e l l e IV B. (Kontrollen.)

1,0	—	0,1	0,001	1,0
0,75	—	0,1	0,001	1,0
0,5	—	0,1	0,001	1,0
0,25	—	0,1	0,001	1,0
0,1	—	0,1	0,001	1,0

Die Mischungen werden gut durchgeschüttelt 1 Stunde im Brutschrank bei 37° gehalten, dann der Ambozeptor (0,001 ccm) + Hammelblutkörperchen zugefügt. Nach 1—2 Stunden ist das Resultat meist schon abzulesen. Stellt man die Serien noch bis zum anderen Morgen auf Eis, so wird der Befund durch die inzwischen erfolgte Sedimentierung noch sinnfälliger.

Schneller verläuft die Reaktion, wenn die Hammelblutkörperchen dadurch vor ihrem Zusatz sensibilisiert werden, daß

sie mit dem Ambozeptor eine halbe Stunde im Brutschrank gehalten werden. Um Agglutination zu vermeiden, ist nach dem Zusatz der Hammel-Blutkörperchen ofters kräftig zu schütteln.

Alle Kontrollen (Tab. IV B) müssen gelöst, hämolysiert sein, nur Tab. IV A zeigt mehr oder weniger vollkommene Hemmung, wenn das Antigen dem Antiserum homolog, in unserem Fall also Menschenblut ist.

Man unterscheidet:

1. K o m p l e t t e H ä m o l y s e: Alle Blutkörperchen sind gelöst; die Flüssigkeit ist völlig durchsichtig, rot und lackfarben.

2. S p u r H ä m o l y s e: Ein Teil der Blutkörperchen liegt ungelöst am Boden des Röhrchens; die Flüssigkeit ist schwächer rot und weniger durchsichtig.

3. K o m p l e t t e H e m m u n g: Alle Blutkörperchen sind ungelöst geblieben; die Flüssigkeit ist farblos.

Dazwischen liegen Abstufungen von fast kompletter, starker, mäßiger, geringer Hämolysse.

Der Grad der Hämolysse läßt sich auch kolorimetrisch bestimmen.

Nur völlige Hämolysse sollte in der forensischen Praxis als positive Reaktion angesehen werden.

Die Komplementbindung ist zweifellos spezifischer als die Präzipitinreaktion und die Gefahr heterologer Reaktionen infolge der Möglichkeit, kleine Mengen Antiserum zu verwenden, viel geringer. Die Spezifitätsbreite ist eine größere. Schon N e i ß e r und S a c h s konnten zeigen, daß nicht völlig artspezifische Antisera, die mit homologem Serum noch in Menge von $1/100\,000$ reagierten, mit $1/100$ heterologem Serum keine Komplementbindung mehr gaben. Die Sera hatten also eine Spezifitätsbreite von 1000.

Von einer Spezifität im zoologischen Sinne kann man aber bei ihr ebenso wie bei der Präzipitinreaktion — und wie bei allen Immunitätsreaktionen — nur in quantitativer Hinsicht sprechen.

Die Komplementbindung hat weiterhin den Vorzug der größeren Empfindlichkeit und Sinnfälligkeit. Ist das Antiserum genau auf seinen Wert geprüft, und eingestellt und schließt man Antisera, die auf andere Art- und Organeiweiße erheblich übergreifen, von der Verwendung aus, so ist diese Empfindlichkeit

ebensowenig für die Beurteilung der Komplementreaktion eine Gefahr wie für die Präzipitinreaktion.

Da indes in forensischen Fällen das Antigen in seiner Zusammensetzung unbekannt ist, und die Möglichkeit vorliegt, daß Stoffe aus dem Substrat, an dem sich der Blutfleck befindet, in den Extrakt übergehen, die an sich schon Komplementbindung verursachen können oder antikomplementär wirken, so sind zu jedem Komplementbindungsversuch eine Reihe von weiteren Kontrollen anzulegen, die derartige Fehlerquellen ausschließen.

K o n t r o l l e n :

Die Zahl der anzulegenden Kontrollen mit heterologem Blut hängt von der Spezifität des daraufhin vorher zu prüfenden Antiserums ab. Greift dasselbe auf heterologe Eiweiße über, so sind diese jedenfalls zur Untersuchung heranzuziehen.

Unerläßlich sind ferner in jedem Falle ein Kontrollversuch mit dem Extrakt aus der Blutspur ohne Zusatz des Antiserums, um zu prüfen, ob dieser allein schon hemmt, sowie ein Kontrollversuch mit dem gekochten Antigen + Antiserum. Die Eiweißantigene werden nämlich durch Kochen zerstört, während die nicht spezifischen hemmenden Stoffe koktostabil sind (U h l e n - h u t h). Bleibt die hemmende Wirkung auch nach dem Kochen des Extraktes bestehen, so ist keine bestimmte Diagnose möglich. Eben sowenig natürlich, wenn der Extrakt allein ebenso stark hemmt wie in der Verbindung mit dem Antiserum.

Je verdünnter der Extrakt ist, desto eher sind solche Fehlerquellen auszuschließen, denn das spezifische Eiweißantigen wirkt noch in Verdünnungen hemmend, in denen die nicht spezifischen Stoffe ihre Wirkung bereits eingebüßt haben.

Schließt man die Komplementbindung zur Bestätigung der Präzipitinreaktion an, so sind Verdünnungen zu wählen, bei welchen die Präzipitinreaktion die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit eben erreicht hat.

Die Komplementbindung gibt auch dann noch ein positives Resultat, wenn die Präzipitinreaktion versagt, sei es, daß die Wertigkeit des Antiserums zu gering ist, oder daß die lösliche Eiweißmenge so gering ist, daß sie sich mittels der Präzipitinreaktion nicht mehr nachweisen läßt. Praktisch ist dies besonders von Bedeutung bei der Prüfung von gekochtem oder heiß geräuchertem Fleisch (Würsten).

In den meisten Fällen werden der Ausfall des Komplementbindungsversuchs, wenn er lege artis angestellt wird, und der der Präzipitinreaktion analog sein; sie werden sich gegenseitig erhärten. Sollte dies einmal nicht der Fall sein, und die Differenz sich nicht aufklären, so ist ein Urteil nur mit großer Vorsicht abzugeben.

Die Serodiagnose der Syphilis und ihre forensische Bedeutung.

Es liegt nicht in dem Rahmen dieses Buches und ist daher nicht meine Absicht, auf die serodiagnostischen Luesreaktionen und ihre Technik näher einzugehen. Außer den zahlreichen Einzelschriften orientieren darüber die Monographien von Bruck, von Plaut und Citron. Ich möchte nur das Prinzip und einige gerichtsärztliche Fragen besprechen.

Die von Wassermann - Neißer - Bruck angegebene Serodiagnose der Lues, die darauf beruht, daß Extrakt aus fötalen Lueslebern, mitluetischem Serum zusammengebracht, Komplement zu binden vermag, ist in ihrem Wesen noch nicht völlig geklärt. Ob sie auf dem Prinzip der Antigen-Antikörperbindung beruht, also eine Immunitätsreaktion ist, wie man ursprünglich annahm (Wassermann - Neißer - Bruck), oder ob dabei Lipoid e beteiligt sind, es sich um eine Bindung physikalisch-chemischer Natur nach Art der Kolloidreaktionen handelt, oder endlich, ob beide nebeneinander hergehen, ist noch nicht erwiesen. Die zweite Erklärung gewann Boden, als sich zeigte,

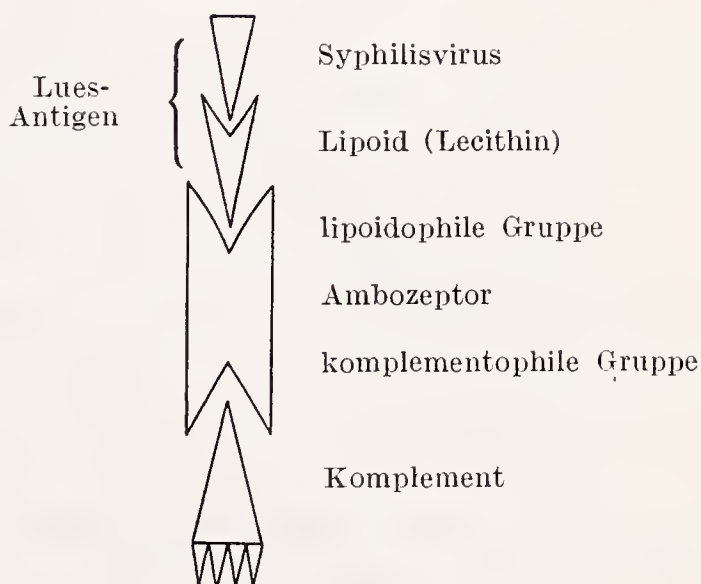


Fig. 27. (Nach Citron).

daß nicht nur der Extrakt aus fötalen Lueslebern, sondern auch der aus normalen menschlichen und tierischen Organen und Tumoren in derselben Weise mitluetischen Seren reagierte, also Komplement verankerte. Und als man den Leberextrakt

durch Lipoidlösungen ersetzte — Lezithin, ölsaures Natron, gallensaure Salze, Cholestearin, Vaseline — erhielt man in der Tat mit diesen denselben Effekt der Komplementbindung, wenn sie mit Luesserum zusammengebracht wurden (Fig. 27). Immerhin war die Reaktion mit dem Leberextrakt stärker, und die wäßrigen Extrakte genügten hier schon, während es bei den normalen Organen der alkoholischen Auslaugung bedurfte. Das Antigen mußte demnach in Luesorganen wenigstens in weit größeren Mengen oder in wasserlöslicher Form vorhanden sein.

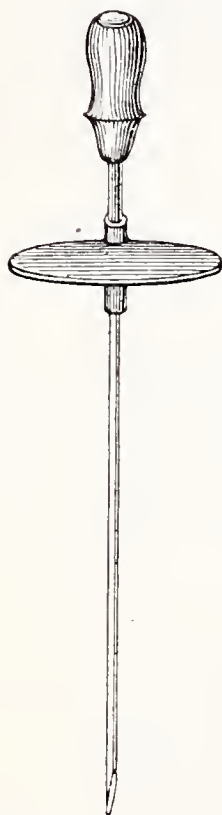


Fig. 28.

Straußsche Nadel. Luesserum gegenüber dem Normalserum beruhen soll (Klausner). Diese Methoden sollen am Schlusse dieses Abschnittes kurz gebracht werden.

Zur Anstellung der klassischen luesdiagnostischen Komplementbindungsreaktion, wie sie von Wassermann - Neisser - Bruck angegeben worden ist, ist erforderlich:

1. Luesserum. Dasselbe wird durch Punktion der Kubitalvene entnommen. Der Oberarm wird mit einer Gummibinde oder einem Handtuch so umschnürt, daß der Radialpuls oben noch fühlbar ist, die Kubitalgegend mit Seife und Alkohol gereinigt. Die Kanüle (Straußsche Nadel) (Fig. 28) wird in die geschwollene Vene in der Ellenbeuge eingeführt und etwa 20 cm

Bruck sprach daraufhin die Vermutung aus, „daß das Antigen nicht direkt von dem Erreger abstammt, sondern irgendeine bisher unbekannte Substanz darstellt, die auch im normalen Organismus vorhanden ist, die aber unter dem Einfluß des Syphiliserregers eine Steigerung erfährt, welche dann zur Antikörperbildung Veranlassung gibt“.

Neben der Komplementbindung wurde dann auch die Präzipitation zwischen Lipoidemulsionen und Luesserum studiert und darauf eine Methode der Diagnose gegründet (Porges - Meyer, Sachs - Altman); ferner die Präzipitation von Seren aus verschiedenen Luesstadien (Fornet - Schereschewsky); ja es fand sich, daß sogar destilliertes Wasser mit Luesserum eine Fällungsreaktion gab, die auf der leichteren Fällbarkeit des Globulins im

Blut in ein steriles Gefäß entnommen. Die meisten Institute stellen solche in versandfähigem Zustande zur Verfügung. Die Blutung kommt schnell zum Stehen, wenn man die Wunde mit sterilem Tupfer komprimiert, die Binde löst und den Arm kurze Zeit hochhält. Die Wunde wird mit sterilem Mull und Heftpflaster bedeckt. Der Eingriff ist fast schmerzlos und ungefährlich. Das durch Absitzen erhaltene Serum wird vom Blutkuchen abgossen, klar zentrifugiert und durch halbstündiges Erwärmen auf 55° (nicht höher!) inaktiviert.

Auch die durch *Quincke'sche* Punktion entnommene Lumbalflüssigkeit kann zur Untersuchung dienen.

2. *Organextrakt.* a) Ein Gramm hereditär-luetischer Leber eines Fötus wird fein zerkleinert und mit 4 ccm physiologischer Na Cl-Lösung (die mit $\frac{1}{2}$ proz. Karbolsäure versetzt ist) 24 Stunden geschüttelt; der erhaltene Extrakt wird durch die Zentrifuge getrennt (nicht zu stark zentrifugieren) oder dekantiert und abpipettiert und vor Licht und Luft geschützt auf Eis aufbewahrt (wäßriger Extrakt); oder

b) 1 Gramm der zerriebenen Leber wird mit 9 ccm absolutem Alkohol mit Glasperlen 24 Stunden geschüttelt, durch Papierfilter filtriert und ebenfalls auf Eis aufbewahrt. (Der alkoholische Extrakt ist monatelang haltbar.)

3. *Der hämolytische Ambozeptor*, durch Injektionen (intraperitoneal!) von gewaschenem Hammelblut vom Kaninchen gewonnen. Es genügt ein Titer von 1:2000—3000.

4. *Komplement.* Frisches Normalserum vom Meerschweinchen, das komplementreicher als Kaninchenserum ist. Aber auch bei jenem schwankt der Gehalt an Komplement stark.

5. *Hammelblut.* 5 proz. Aufschwemmung in physiologischer Na Cl-Lösung von dreimal serumfrei gewaschenen Hammelblutkörperchen.

Vor dem Versuch ist die Ambozeptordosis für 0,1 oder 0,05 Komplement auszutitrieren und davon die zweifach komplett lösende Dosis zu nehmen.

Versuch: 0,05 Ko. + 0,2 Pat.-Serum + 0,2 Extrakt. Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank Zufügen der doppelten komplett lösenden Ambozeptordosis + 1,0 ccm 5 proz. Hammelblut. Mit physiologischer Na Cl-Lösung auf das Gesamtvolumen von 2,5 ccm gebracht.

Nur „komplette Hemmung“ oder „große Kuppe“ ungelöster Blutkörperchen nach 2 Stunden Brutschrank und über Nacht auf Eis ist positive Reaktion.

K o n t r o l l e n:

- a) 0,05 ccm Kompl. + doppelter Amboz. + 1,0 ccm Ha.-Blut;
- b) 0,05 ccm Kompl. + 0,4 ccm Pat.-Serum + Amboz. + Ha.-Blut;
- c) 0,05 ccm Kompl. + 0,2 ccm Pat.-Serum + Amboz. + Ha.-Blut.
- d) 0,05 ccm Kompl. + Extrakt (einfache Dosis) + Amboz. + Ha.-Blut;
- e) 0,05 ccm Kompl. + Extrakt (doppelte Dosis) + Amboz. + Ha.-Blut.

Ad a) Prüfung des hämolytischen Systems.

Ad b) Versuch mit der doppelten Dosis Lues-Serum.

Ad c) Desgleichen mit der einfachen.

Ad d u. e) Prüfung, ob der Extrakt nicht an und für sich schon hemmt.

Außerdem weitere Kontrollen mit sicher luetischen und sicher nicht luetischen Seren.

Die Lösungsgeschwindigkeit wird auch hier — wie bei der Komplementbindung überhaupt — erheblich gesteigert und der Hemmungswirkung des Extraktes an sich entgegengewirkt, wenn man die Blutkörperchen vor der Zufügung derselben $\frac{1}{2}$ Stunde im Brutschrank mit dem Ambozeptor zusammenbringt, „sensibilisiert“, so daß die Erythrozyten das Hämolysin an sich binden.

Indem ich die von verschiedenen Seiten vorgeschlagenen Modifikationen dieser Komplementbindungsreaktion übergehe und in bezug auf diese auf die Spezialliteratur verweise, wende ich mich zu den Fragen von gerichtsärztlicher Bedeutung.

I. Zunächst die wichtige Frage, ob die Reaktion spezifisch für Lues ist? Sie ist nach den bisherigen Erfahrungen dahin zu beantworten, daß eine biologische Spezifität im Sinne der Immunitätsforschung zwar nicht vorhanden ist, daß sie jedoch — obgleich sie in einem geringen Prozentsatz auch bei Tuberkulose, Pneumonie, Malaria, Tumoren (Kachexien), bei Framboesie, Scharlach, Trypanosomenkrankheit, in größerem bei Lepra positiv

ausfällt — doch als in hohem Maße charakteristisch für Syphilis (Tabes, Paralyse) angesehen werden kann.

2. Eine positive Reaktion ist gewöhnlich nicht vor der 6. Woche nach der Infektion, also nicht vor völliger Durchseuchung des Körpers mit dem Syphilisvirus zu erwarten, tritt aber häufig noch später ein. Wenn also jemand auf Grund der Untersuchung sich für oder gegen seine Eheschließung entschließen will, ist ein negativer Ausfall der Reaktion in den ersten Wochen nach der Infektion, in der sogenannten Inkubationszeit, nicht absolut entscheidend.

Überhaupt kann ein einmaliger negativer Ausfall nicht mit Sicherheit gegen das Vorhandensein von Syphilis sprechen. Es kommen tatsächlich Fälle vor, wo die Reaktion bei nachweislich vorhandener Lues ausbleibt. Indessen spricht ein wiederholter negativer Ausfall mit großer Wahrscheinlichkeit gegen Lues.

3. Der Prozentsatz der positiven Reaktionen im Primärstadium variiert zwischen 50—95 %, zeigt also große Differenzen, im manifesten Sekundärstadium tritt sie in 90—95 % positiv auf, während im Tertiärstadium die Kurve wieder sinkt und nur mehr 70—80 % der Fälle positiv reagieren. In den quartären Stadien der Lues (W a s s e r m a n n, E r b), der Paralyse und Tabes, sind noch 70—75 % positive Fälle vorhanden, und es ist für die Differentialdiagnose von Interesse, daß sich diese vom Hirntumor serodiagnostisch abgrenzen lassen. Bei letzterem gab sowohl Blutserum wie Lumbalflüssigkeit ein negatives Resultat. Das Latenzstadium endlich hat noch 50—60 % positive Fälle.

Das letztere Ergebnis ist besonders wichtig. Es kommen oft Personen mit einer früheren Infektion, die seitdem durch Jahre gesund gewesen sind, vor Abschluß der Ehe oder eines Lebensversicherungsvertrages zur Untersuchung; auch zahlreiche Syphilophoben, Hypochonder, Neurastheniker wollen ihr Gewissen entlasten und Ruhe haben. Vor allem aber ist der soziale Nutzen der Aufdeckung latentsyphilitischer Ammen und Kindermädchen nicht hoch genug zu veranschlagen. Da ist es von Bedeutung zu wissen, daß die positive Reaktion als Krankheitssymptom gedeutet werden muß (N e i ß e r - B r u c k), daß sie noch bestehende Lues beweist; daß die Eingehung der Ehe von einer oder mehreren gründlichen Kuren bis zur negativen Reaktion abhängig gemacht werden sollte, obgleich Personen mit positiver Reaktion

gesunde Kinder zeugen können. „Eine positive Reaktion spricht für aktive Lues, eine negative für vollkommene Latenz oder Heilung, schließt aber aktive Lues nicht völlig aus“ (C i t r o n).

4. Der Einfluß der spezifischen Behandlung auf den Ausfall der Reaktion ist unverkennbar; die Zahl der positiven Reaktionen ist um so geringer, je energischer behandelt wurde. Wahrscheinlich beruht diese Erscheinung auf einer direkten Schädigung des Virus durch die Hg-Therapie.

An Stelle und neben der Komplementbindungsmethode sind folgende andere Luesreaktionen angegeben worden:

Die A u s f l o c k u n g s m e t h o d e v o n P o r g e s - M e y e r: Eine 1 proz. Lösung in destilliertem Wasser oder 1 proz. Lezithinaufschwemmung in physiologischer NaCl-Lösung + $\frac{1}{2}$ proz. Phenol wird mit dem Luesserum zu gleichen Teilen (0,2 ccm aa) gemischt und 16—24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Deutliche Flockenbildung an der Oberfläche der Flüssigkeit ist positive Reaktion. 33—75 % positive Fälle.

Die P r ä z i p i t a t i o n s m e t h o d e v o n F o r n e t - S c h e r e s c h e w s k y (E i s e n z i m m e r u n d R o s e n - f e l d): Beim vorsichtigen Überschichten von Paralytiker- oder Tabetikerserum mit frischem Luesserum tritt an der Berührungszone eine Ringbildung auf. Aber auch beim Überschichten von Luesextrakt mit Luesserum (Michaelis), von Lues- mit Normalserum (P l a u t), sogar von verschiedenen Verdünnungen ein und desselben Serums (A s c o l i , C e n t a n n i) und von Seren aus verschiedenen Stadien ein und derselben Infektionskrankheit, z. B. Masern und Scharlach (S c h e r e s c h e w s k y), von Verdauungs- mit Nüchternserum (A s c o l i).

Die F ä l l u n g s r e a k t i o n v o n K l a u s n e r: 0,2 ccm klaren frischen fett- und Hb-freien Luesserums wird mit 0,6 ccm destilliertem Wasser vermischt. In 3—10 Stunden tritt eine Ausflockung ein, die stärker ist als bei Normalseren, weil, wie man annimmt, das Globulin sich in einem Zustand stärkerer Ausfällbarkeit befindet. B r u c k fand, daß in 77 % der Fälle das Resultat dieser Reaktion mit dem der Komplementbindung übereinstimmt, daß sie aber auch in 23 % der nichtluetischen Fälle positiv ausfiel.

Die Farbenreaktion von Schürmann: 0,1 ccm Serum wird mit physiologischer Na Cl-Lösung auf 3—4 ccm verdünnt, ein Tropfen H_2O_2 zugefügt, geschüttelt und 0,5 ccm des Reagens zugesetzt (Phenol 0,5, 5 proz. Eisenchlorid 0,62, Aq. dest. 34,5). Normalseren sollen durchsichtig klar bleiben, Luesseren schwarzbraun und dickflüssig werden. Es handelt sich wahrscheinlich um Oxydation des Phenols durch das H_2O_2 infolge der katalytischen Wirkung des Eisenchlorids.

Von diesen 4 Reaktionen steht die Klausnersche, was den Ausfall anbetrifft, der Komplementbindungsmethode am nächsten. Ein Urteil ist jedoch auf Grund lediglich dieser 4 letztgenannten Reaktionen in der Praxis nicht abzugeben.

Als am zuverlässigsten ist vielmehr die Komplementbindungsmethode mit wäßrigem luetischen Leberextrakt als Antigen, Meerschweinchenserum als Komplement und künstlichem hämolytischen Kaninchenserum als Ambozeptor anzusehen.

Der Anaphylaxie-Versuch.

Zu der Präzipitinreaktion und dem Komplementbindungsverfahren ist in neuerer Zeit als dritte biologische Methode des Nachweises der Blutart die anaphylaktische Reaktion getreten.

Unter Anaphylaxie (Richt) oder Überempfindlichkeit versteht man den Zustand des Tieres, der sich nach der Einverleibung (Sensibilisierung) mit — meist minimalen — Mengen einer Eiweißart einstellt, wenn nach einem gewissen Intervall eine größere Dosis derselben Eiweißart reinjiziert wird. Diese Reaktion des Tieres besteht im Auftreten typischer Krankheitserscheinungen, denen u. U. der Tod folgen kann.

Unmittelbar nach der Reinjektion wird das Tier unruhig, würgt und hustet, krümmt den Rücken, taumelt, der Leib wird aufgetrieben und ist äußerst druckempfindlich, die Atmung wird heftig und beschleunigt, die Herztätigkeit wird schwach, die Körpertemperatur fällt rapide, Kot und Urin gehen ab; schließlich fallen die Tiere zur Seite und verenden in wenigen Minuten unter Zuckungen. Der Temperaturabfall ist um so bedeutender, je geringer die zur Sensibilisierung benutzte Dosis

war (P f e i f f e r). Er geht von der normalen Temperatur des Meersehweinehens, die $39-40,4^{\circ}\text{C}$ beträgt, bis auf $38-36-33,6^{\circ}$ herunter. Unter 38°C kann als krankhaft, als anaphylaktische Temperatur angesehen werden. Vier Stunden nach der Reinjektion hat der Temperaturabfall sein Maximum überschritten.

Anatomisch zeigen die verendeten Tiere Hyperämie des Darmtractus, subseröse Hämorrhagien an Herz, Lungen, Milz, Magen (Peteehien).

Nicht jedes Tier reagiert in dieser Weise; es bestehen individuelle und Rassendifferenzen, und nur bei Säugetieren ist bisher Anaphylaxie beobachtet worden. Manchmal erholen sich die Tiere wieder und sind nach auffallend kurzer Zeit wieder ganz wohl.

Daß der anaphylaktische Chok in dem nervösen Organ sich abspielt, wird durch die Tatsache bewiesen, daß er ausbleibt, wenn das Tier vor der Reinjektion narkotisiert wurde, während aus seiner Übertragbarkeit auf andere normale Tiere (passive Anaphylaxie) geschlossen werden kann, daß er auf einer im Blute kreisenden Substanz beruht (anaphylaktischer Reaktionskörper, Sensibilisin).

Man unterscheidet natürliche (angeborene, konstitutionelle) und künstliche (erworbene) Anaphylaxie.

Zu ersterer sind die Idiosynkrasien zu rechnen, die nach Genuß von Krebsen, Hühnereiern, Schweinefleisch sich in Koliken, Exanthem, Fieber usw. zeigen. Auch die Serumkrankheit der Erstinjizierten gehört hierher.

Die künstliche tritt durch die eingangs erwähnte Vorbehandlung mit körperfremdem, heterologem Eiweiß ein, und diese ist es, die hier forensisch interessiert, denn sie ist hochgradig spezifisch. Mit Menschenserum vorbehandelte Tiere sind nur gegen dieses überempfindlich, nicht gegen heterologe Eiweißarten. Spritzt man einem Tier — es eignen sich am besten Meersehweinchen, aber auch Kaninehen — eine Eiweißlösung unbekannter Art ein, und wird es nach der Reinjektion menschlichen Blutserums anaphylaktisch, so war auch die erste Eiweißlösung menschliche.

Der anaphylaktische Versuch zerfällt also in 3 Phasen:

1. In die Vorbehandlung (Sensibilisierung).

2. In das als Inkubation oder als präanaphylaktische Periode bezeichnete Intervall.

3. In die Reinjektion, die eigentliche Probe.

Ad 1. Zur Sensibilisierung genügt eine einmalige Injektion der Eiweißlösung, und zwar schon eine ganz geringe Menge derselben (0,001—0,004 ccm). Die Injektion kann subkutan, intraperitoneal, am besten intravenös erfolgen; die intrakardiale (M o r g e n r o t h) ist technisch etwas schwieriger, die intrazerebrale hat besonders stürmische Reaktion im Gefolge, endlich ist auch die stomachale (enterale) Einverleibung gelungen. Nur wenn die Eiweißlösung sehr verdünnt ist, so daß also mit der Injektion weniger als 0,001 ccm einverleibt wurde, kann man mehrere Injektionen (über den anderen Tag) machen.

Ad 2. Die Inkubationszeit, die nun auf die Sensibilisierung folgt, und nach welcher sich die Überempfindlichkeit einstellt, variiert je nach der injizierten Serummenge. Je kleiner die Dosis, desto eher tritt die Anaphylaxie auf. Bei 0,001—0,01 ccm schon nach 12—18 Tagen; bei mittleren oder großen Dosen (4—10 ccm) dauert es Wochen bis Monate, bis sie zutage tritt. Ist sie aber einmal vorhanden, so hält sie an, bleibt monate- und jahrelang nachweisbar und ist auch auf die Nachkommen vererbbar. Es empfiehlt sich also, die Reinjektion nicht vor Ablauf von 3 bis 4 Wochen nach der Sensibilisierung auszuführen. Ferner ist die Applikationsweise von Einfluß auf die Inkubationsdauer. Abgesehen von individuellen Schwankungen, braucht die subkutane Einverleibung am längsten Zeit. Dieselbe Beobachtung wird ja auch bei der Präzipitinbereitung gemacht, wo auch die intravenöse Applikation am schnellsten zum Ziele führt.

Ad 3. Die Reinjektion, die Prüfung auf Anaphylaxie (épreuve), erfolgt nach Ablauf der Inkubationszeit. Es werden hierbei größere Mengen bzw. konzentriertere Lösungen der Eiweißart eingespritzt, die nachgewiesen werden soll. Je mehr davon rasch in die Blutbahn gelangt, desto schwerer und deutlicher treten die anaphylaktischen Symptome auf.

Die Reinjektion kann auch wieder subkutan, intraperitoneal intrakardial, intravenös oder intrazerebral gemacht werden. Die subkutane und intraperitoneale Injektion erfolgt nach den schon früher beschriebenen Regeln. Es bleibt also nur über die anderen Methoden einiges zu sagen.

T e c h n i k d e r i n t r a k a r d i a l e n I n j e k t i o n :
Der Gehilfe hält das Meerschweinchen mit dem Kopf nach oben ausgestreckt, so daß Brust- und Bauchseite frei liegen. Links oberhalb des Schwertfortsatzes, wo man das Herz pulsieren fühlt, geht man mit der Kanüle ein, bis Blutstropfen hervordringen. Aus der aufgesetzten luftleer gefüllten Spritze injiziert man dann langsam die Eiweißlösung, also das native Serum, direkt ins Herz.

T e c h n i k d e r i n t r a z e r e b r a l e n I n j e k t i o n :
Diese Methode bedarf der vorausgehenden Trepanation des aufgespannten Tieres.

T e c h n i k d e r i n t r a v e n ö s e n I n j e k t i o n beim Meerschweinchen. Das auf dem Rücken liegende Tier wird aufgespannt, die Jugularis freigelegt und durch zwei Sperrpinzetten oben und unten abgeklemmt. Die luftleer gefüllte Spritze wird nach dem zentralen Ende eingeführt und nach Lüftung dieser Klemme langsam injiziert. Die Einstichstelle wird mit einer Pinzette verschlossen und mit steriler Seide ligiert, die Hautwunde vernäht.

Bei der intraperitonealen und besonders bei der subkutanen Applikation sind große Serummengen (5—6 ccm) wegen der langsameren Resorption nötig, um schwere Krankheitserscheinungen auszulösen. Für die intrazerebrale hingegen kann man nur kleine Serummengen (0,25—0,008 ccm) nehmen; allerdings führt diese am schnellsten und deutlichsten zur anaphylaktischen Reaktion. Zur intrakardialen und intravenösen Applikation genügen 0,5—1,0 ccm Normalserum der Eiweißart, die nachzuweisen ist. Auch hier treten die anaphylaktischen Symptome rasch, in wenigen Minuten auf, während sie bei der subkutanen und intraperitonealen oft 10—20 Minuten auf sich warten lassen.

U h l e n h u t h empfiehlt, die zur Reinjektion benutzten Sera zu inaktivieren (durch halbstündiges Erwärmen auf 60°), da frische Normalsera bei Meerschweinchen schon in kleinen Dosen toxisch wirken, und sie ferner auf 37° erwärmt einzuspritzen, um die den Reaktionsablauf störende Chokwirkung zu vermeiden.

Bei jedem anaphylaktischen Versuch sind mehrere Tiere gleichzeitig zu behandeln und folgende K o n t r o l l e n auszuführen:

1. Frische, ungebrauchte Tiere gleicher Art sind mit derselben Dosis gleichen Serums in derselben Weise zu spritzen wie das reinjizierte Tier, um zu prüfen, ob die Dosis nicht an sich schon anaphylaktisch wirkt.

2. Einige von den sensibilisierten Tieren sind mit heterologem Eiweiß zu spritzen, um zu prüfen, ob nicht auch dieses anaphylaktische Symptome hervorruft.

Der forensische Wert der Anaphylaxie-reaktion liegt, abgesehen von der hochgradigen Spezifität, in der Tatsache, daß schon die minimalsten Eiweißmengen zur Sensibilisierung genügen, und endlich, daß auch denaturiertes, z. B. erhitztes Eiweiß sensibilisierend wirkt. Das Sensibilisinogen ist in hohem Grade thermostabil. Sera, auf 100—120° 15 Minuten erwärmt, anaphylaktisieren noch. Gegenüber der Präzipitinreaktion hat sie den Vorteil, daß das Antigen (das Sensibilisinogen) nicht, wie bei dieser, durchaus klar zu sein braucht; daß also altes, ja faules trübes Antigen zu benutzen ist.

Ein Nachteil ist, daß sie ebensowenig organ- und verwandtschaftsartspezifisch ist wie die Präzipitinreaktion. Verwandte Blutarten (Mensch—Affe, Esel—Pferd, Maus—Ratte, Ziege—Hammel) gelang U h l e n h u t h nicht zu unterscheiden. Immerhin wird man bei Antigenen, die sich für die Präzipitinreaktion nicht eignen, die anaphylaktische Reaktion wie die Komplementbindung — ihre Fehlerquellen beachtend — zur biologischen Prüfung heranziehen können.

Ob eine quantitative Gestaltung der Untersuchungsmethodik den Wert der anaphylaktischen Prüfung noch erhöht, muß die weitere Erfahrung lehren.

Der quantitative Blutnachweis.

Im Anschluß an den Polnaer Mordprozeß versuchten als erste **S t r a ß m a n n** und **Z i e m k e** 1899 eine vergossene Blutmenge zu bestimmen. Damals handelte es sich um die Frage, ob die außerhalb der Leiche gefundene Blutmenge geringer sei als diejenige, welche sich aus dem Körper entleert haben mußte, ob ein Teil also zu rituellen Zwecken benutzt worden sein konnte. Eine ähnliche Beschuldigung wurde bekanntlich auch im Xantener Mordprozeß erhoben.

Es kann sich ferner um die Entscheidung handeln, ob Wunden bei Lebzeiten oder nach dem Tode entstanden sind; ob eine Leiche am Fundort ausgeblutet oder an anderer Stelle getötet, verblutet und erst später verschleppt worden ist, ob also der Fundort auch Tatort ist; in der gerichtlichen Geburtshilfe, ob Blutflecken von Menstrualblut oder von einer Niederkunft herühren u. dgl. m.

Die vollständige Entnahme des blutigen Objektes ist nicht immer leicht. Darüber ist im allgemeinen Teil das Notwendige gesagt.

S t r a ß m a n n und **Z i e m k e** gaben drei Methoden an, die Blutmenge zu messen:

1. Die Bestimmung der Trockensubstanz

der bluthaltigen Partie des Objektes im Vergleich zu einer gleich großen nicht bluthaltigen desselben. Die Gewichts-differenz ist auf das Mehrgewicht der Trockensubstanz des Blutes zu beziehen, sofern keine anderen das Gewicht beeinflussenden Stoffe daneben vorhanden waren. Aus den festen Bestandteilen läßt sich die flüssige Blutmenge berechnen, da nach **B u n g e** das Verhältniß beider ca. 200 : 1000 ist.

2. Die Wägung des getrockneten Stoffes

vor und nach der Auswaschung des Blutes. Beide Methoden hatten im Versuch bei an Leinen angetrocknetem Blut etwa 20 % Fehlerquellen.

3. Die kolorimetrische Bestimmung des Blutfarbstoffes.

Bei frischen Blutspuren, die der vollständigen Auslaugung mit destilliertem Wasser zugänglich waren, erwies sich diese Methode als sehr brauchbar. Sie ergab *S t r a ß m a n n* und *Z i e m k e* mit dem *H ä m o g l o b i n o m e t e r* von *G o w e r s* innerhalb der ersten Woche nur eine Fehlergrenze von 10 bis höchstens 15 %. Nach dieser Zeit wurde das Resultat wegen der mehr und mehr sich geltend machenden Umwandlung des Hb in Met Hb oder gar Ht und mangels dazu passender Testlösung ungenau. Denn weder die Testlösung von *G o w e r s* — eine übrigens vergängliche, ablassende Pikrokarminglyzerinlösung — noch die empirisch festgestellte *S k a l a* von *F l e i s c h l - M i e s c h e r* lassen sich dann mehr mit der Farbe des Blutextraktes exakt vergleichen, da sie beide auf Oxy Hb eingestellt sind.

Diesen Übelstand vermeidet der von *S a h l i* neuerdings verbesserte *G o w e r s s c h e* *A p p a r a t*, so daß ich mit diesem die geringen Fehlerquellen der kolorimetrischen Bestimmung noch weiter vermindern und auch ältere, faule und erhitzte Blutobjekte der Untersuchung zugänglich machen könnte.

Das *S a h l i s c h e* *H ä m o m e t e r* (Fig. 29) besteht aus einem Hartgummigestell, in welchem die Vergleichsröhrchen vor einer Milchglasscheibe stehen. Hierdurch werden störende Reflexe ausgeschaltet, die Randstrahlen und seitliches Licht abgeblendet. Man hat optisch den Eindruck, als befänden sich die Flüssigkeiten in planparallelen Glaskästchen. Das Licht fällt nur durch die zentralen Teile der Röhrchen. Die beigefügte, mit einem Gummischlauch armierte Pipette ist auf 20 cmm Inhalt geaicht (Fig. 30).

Das *S a h l i s c h e* *H ä m o m e t e r* enthält als Testlösung eine salzsaure Ht-Verbindung. Diese entspricht in ihrer Farbennuance einer 100 fachen Verdünnung von Normalblut, welches durch Zusatz der 10 fachen Menge einer $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure

zu einer abgemessenen Blutmenge (0,02 ccm) in salzsaures Ht umgewandelt ist. Dieselbe Umwandlung wird an dem zu untersuchenden Blutextrakt vorgenommen, indem 0,02 ccm = 20 cmm davon mit der Kapillarpipette aufgesaugt und zu der 10 fachen Menge der verdünnten Salzsäure in dem graduierten Röhrchen, dessen Teilstrich je 10 cmm entspricht, hinzugefügt und mit ihr

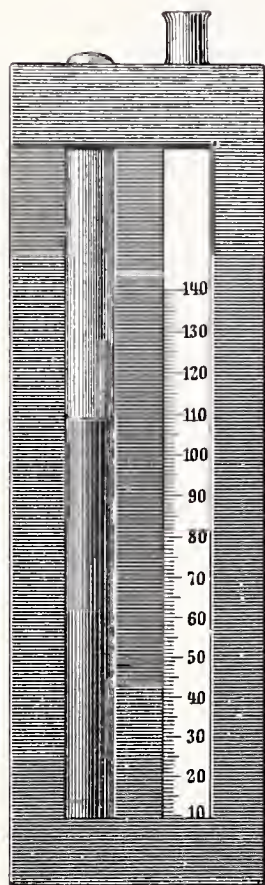


Fig. 29.

Hämometer.



Fig. 30.

gemischt werden. Es entsteht eine mehr oder weniger dunkelbraun gefärbte Ht-Lösung, die mit gewöhnlichem Wasser bis zur Farbengleichheit mit der Testlösung verdünnt wird. Das graduierte Röhrchen zeigt dann direkt den Hb-Gehalt des Blutes in Prozenten der Norm (Normalblut zu 100 % angenommen) an. Ein besonderer Vorteil ist, daß sich die mit der Salzsäure bereitete Blutlösung gleichzeitig mit dem Farbumschlag klärt. Störende anorganische Beimengungen (Holz-, Blatt-, erdige Teilchen, Zeugfasern) werden durch Zentrifugieren sedimentiert.

Die Technik der Berechnung ist folgende:

Ein Teil der Extraktionsflüssigkeit wird mit zehn Teilen der Normalsalzsäure und Wasser bis zur Farbengleichheit mit der Testlösung in dem graduierten Röhrchen verdünnt. Die Verdünnungszahl entspricht dem Normal-Hb-Gehalt der Testlösung. Durch Gleichung läßt sich dann zunächst die Zahl (x) der Kubikzentimeter berechnen, auf die die ganze Extraktionsflüssigkeit verdünnt werden müßte, um in der Farbe der Testlösung zu gleichen. Die Verdünnungszahl entspricht dem Hb-Gehalt der gesamten Auslaugeflüssigkeit. Diese Prüfung wird mehrmals ausgeführt und das Mittel für x genommen. Betrage z. B. die

Extraktionsflüssigkeit 150 ccm, und sei 1 Teil derselben auf 16 zu verdünnen, um der Testlösung zu gleichen, so ist $\frac{1}{16} = \frac{150}{x}$ und $x = 2400$. Die Blutmenge findet sich dann nach der Gleichung $\frac{2}{0,02} = \frac{x}{y}$; d. h. nimmt man den Hb-Gehalt des Normalblutes und auch den des gesuchten Blutquantums = 100 an, so ist der Hb-Gehalt eines Teilstriches im Meßröhrchen = $100 \cdot 0,02$, also = 2. Der Hb-Gehalt eines Teilstriches des gesuchten Blutquantums im Meßröhrchen verhält sich nun zu der Menge eines Teilstriches (2 : 0,02) wie der Hb-Gehalt der ganzen gesuchten Blutmenge (x) zu dieser Menge selbst (y). Da $x = 2400$, so ist $\frac{2}{0,02} = \frac{2400}{y}$ oder y, das gesuchte Blutquantum, = 24 ccm.

Da die Menge des Blutfarbstoffes im Blute eine schwankende ist, niedriger oder höher als 100, so liegt eine unvermeidliche Fehlerquelle darin, sie auf 100 willkürlich anzunehmen. Der Fehler wird um so größer, je größer die Blutmenge ist.

Zur Extraktion für die S a h l i s c h e Kolorimetrie fand ich außer dem destillierten Wasser kaltgesättigte Lösungen von Borax, Soda, Pottasche geeignet. Sie haben den Vorteil, daß sie die Fäulnis und also die Trübung des Extraktes auch bei mehrtägiger Auslaugung hintanhaltend, während beim Gebrauch destillierten Wassers sich schon bald Trübung und Schimmelbildung einstellt.

4. Die Bestimmung der Blutfarbstoffmenge mittels des Verfahrens von Brozeit.

Dieses von A. S c h u l z für den forensischen Zweck nutzbar gemachte Verfahren besteht darin, daß die mit Salzsäure angesäuerte Blutlösung mit Äther geschüttelt wird. Dabei verbindet sich der Blutfarbstoff als Ht mit dem Äther; allerdings auch andere Stoffe, z. B. Fette. Wird der Äther wieder mit Ammoniakwasser geschüttelt, so wird der Blutfarbstoff von letzterem aufgenommen und kann aus ihm durch Verdampfen des Wassers in fester wägbarer Form als alkalisches Ht ausgefällt werden. Die Lösung der Blutspur geschieht mit destilliertem Wasser, bei

älteren Spuren nach S c h u l z auch mit 1 proz. Kalilauge (ca. 20 % Fehlerquellen nach S c h u l z).

5. Die Bestimmung des spezifischen Gewichts der Blutlösung.

Das spezifische Gewicht destillierten Wassers erhöht sich u. U. gesetzmäßig entsprechend der ihm zugesetzten Blutmenge. Auf dieser Tatsache fußend, hat M a r x die Blutmenge zu bestimmen gesucht. Nach möglichst vollständiger Auslaugung des Objektes mittels destillierten Wassers wird das spezifische Gewicht des Extraktes mit dem Aräometer (genauer mit dem Pyknometer) bestimmt und aus der gefundenen Zahl (s), der Menge des benutzten Wassers (w) und dem spezifischen Gewichte des Blutes (auf 1055 geschätzt) die Blutmenge nach der Formel berechnet: $x : w = s : 55$.

Das Verfahren an sich ist einfach, in der Praxis machen sich jedoch manche Fehlerquellen störend bemerkbar. Zunächst ist schon das spezifische Gewicht frischen flüssigen Blutes inkonstant — dieselbe Fehlerquelle wie bei der Kolorimetrie die Veränderlichkeit des Hb-Gehaltes; ein ganz anderes ist aber das spezifische Gewicht des gelösten getrockneten Blutes als das des frischen. Sodann gilt die Formel nur dann, d. h. das spezifische Gewicht der Mischung steigt nur dann gesetzmäßig, wenn auch die Menge der Mischung gesetzmäßig zunimmt; tritt eine Volumveränderung der vereinigten Flüssigkeiten ein, so findet eine entsprechende Verminderung oder Erhöhung des spezifischen Gewichtes hierdurch statt. Das spezifische Gewicht der Mischung ist dann nicht gleich dem arithmetischen Mittel aus den spezifischen Gewichten der einzelnen Flüssigkeiten, und daher ist aus dem spezifischen Gewicht der Mischung nur auf die Menge zu schließen, wenn man weiß, in welchem Grade etwa eine Volumkontraktion der beiden Teile bei der Vermischung eingetreten ist. Beim Zusatz von frischem Blut zu destilliertem Wasser steigt die Dichte z. B. nur gesetzmäßig, solange die Blutkörperchen sich noch völlig auflösen, also bis zu einem Verhältnis vom Wasser zum Blut wie 4 : 1. Darüber hinaus, wenn Blutkörperchen ungelöst bleiben, nicht mehr.

Für ältere Blutspuren, die in destilliertem Wasser weniger oder gar nicht löslich sind, eignet sich das Verfahren nicht; ebenso-

wenig für faules Blut, in welchem die Blutbestandteile durch die bei der Fäulnis sich bildenden organischen Säuren zerstört worden sind (M a r x). Endlich verändern nicht nur alle die atmosphärischen und chemischen Einflüsse (Besonnung, Schimmelbildung, Rost usw.), denen das Blut in der Praxis ausgesetzt sein kann, sondern auch etwaige Beimengungen zum Blut, Verunreinigungen des Objektes, die mit in die Lösung gehen, ihrerseits das spezifische Gewicht durch Erhöhung oder Verminderung. Je kleiner die Blutmenge, desto störender macht sich dies bemerkbar. Alle diese Momente verursachen schon bei größeren Blutmengen Fehlerquellen von 30 und mehr Prozent. Weitere Versuche werden zeigen müssen, ob sie sich noch einschränken lassen und das Verfahren auch für die Praxis brauchbar machen.

Erfolgt die Auslaugung bei höherer Temperatur als 15° , so muß die Abkühlung des Extraktes auf diese Temperatur abgewartet oder die Zahl s in der Weise reduziert werden, daß für jeden Grad etwa 0,2 abgezogen wird.

6. Mittels der Präzipitinreaktion.

A. S c h u l z fand, daß 1. die Intensität der Eiweißfällung bei Verwendung derselben Antiserummenge parallel geht der Konzentration der (zu prüfenden) Eiweißlösungen. Die stärkere Konzentration weist stets eine stärkere Trübung auf als die schwächere (allerdings bis zu einer gewissen Grenze, da zu hoher Überschuß an präzipitabler Substanz die Reaktion abschwächt bzw. hemmt); daß 2. auch der zeitliche Ablauf der Trübungen sich nach bestimmten Gesetzen vollzieht, so zwar, daß das Auftreten der Trübungen in den Verdünnungen der Eiweißlösung von gleicher Konzentration zeitlich stets zusammenfällt.

Hierauf baute S c h u l z das Prinzip der quantitativen Blutbestimmung auf. Wenn z. B. ein Antiserumzusatz von 0,1 ccm zu einer Verdünnungsreihe homologen Blutes in einer bestimmten Zeit (etwa 30 Minuten) die Verdünnung $1/10\,000$ als letzte trübt, dann hat die Verdünnung einer anderen Blutlösung (also der Auslaugeflüssigkeit), die sich in derselben Zeit in gleicher Stärke trübt, auch die Konzentration $1/10\,000$. Durch Gleichung läßt sich dann aus dieser Zahl und der Menge der zur Auslaugung

benutzten physiologischen NaCl-Lösung, sowie der Zahl für die Wertigkeit des Antiserums die Blutmenge berechnen.

Das Blutmaterial wird durch längere Zeit im Eisschrank mit physiologischer NaCl-Lösung ausgelaugt, die Lösung zentrifugiert und klar filtriert; sodann die Wertigkeit des Antiserums an homologer Blutlösung (nicht Serum), wie früher beschrieben, festgestellt. Da durch die Filtration der Auslaugeflüssigkeit eine gewisse Eiweißmenge verloren geht, ist das Antiserum ebenso oft und in derselben Weise vor der Wertigkeitsbestimmung zu filtrieren. Ein hochspezifisches Antiserum ist durchaus erforderlich; selbstverständlich muß es auch die übrigen Forderungen eines forensisch brauchbaren Antiserums erfüllen.

Von der Extraktionsflüssigkeit wird dann in derselben Weise eine Verdünnungsreihe in geometrischer Progression angelegt, zu je 0,9 ccm Extrakt 0,1 ccm Antiserum gefügt und das Auftreten der letzten Trübung innerhalb 30 Minuten abgelesen und notiert.

Die Berechnung erfolgt nach der Formel $x : nk = w$, wo x = die gesuchte Blutmenge, w = die Wertigkeit des Antiserums und nk = die zuletzt getrübe Verdünnung der Extraktionsflüssigkeit ist. Betrage die Menge der benutzten Koehsalz-lösung (k) = 200, und gehe in der Probe die Trübung in 30 Minuten bis zu der Verdünnung 1 : 720 ($= n$), so ist

$$x : 720 \cdot 200 = 1 : 10\,000; \quad x = \frac{720 \cdot 200}{10\,000}; \quad x = 14,40 \text{ ccm.}$$

Als Fehlerquellen kommen bei der biologischen Prüfung alle die Momente in Betracht, die wir als eiweißschädigend und -zerstörend kennen gelernt haben: Fäulnis, Besonnung, Erhitzung, chemische Stoffe usw. Dann aber auch Beimischung von Eiweiß anderer Provenienz desselben Körpers oder derselben Spezies. Endlich wirken Trübungen, die während einer längeren Auslaugung gern in dem Extrakt entstehen, dadurch störend, daß sie die exakte Ablesung des Resultats erschweren. Es empfiehlt sich daher die Auslaugung mit Karbolkoehsalzlösung.

Für frische, etwa bis zu einer Woche alte Blutspuren in Geweben, Sand, Erde, Laub, Spänen eignen sich also die angegebenen Methoden alle. Die wenigsten Fehlerquellen sind hier von der biologischen und der kolorimetrischen Prüfung mit Sahli's Hämometer zu erwarten. Für ältere faulige, stark verunreinigte, bis zu einem gewissen Grade erhitzte Blutspuren kommt dagegen

nur die kolorimetrische Prüfung mit Sahlis Hämometer in Frage, die noch an 3—4 Wochen alten eingetrockneten oder flüssig-fauligen Blutobjekten annähernd die ganze Blutmenge ergab. Dagegen scheitert auch diese Methode an länger oder stärker erhitzten Spuren. Erhitzung auf 120—130° kurze Zeit ergab nur mehr die halbe Blutmenge; Erhitzung auf 150° machte jede kolorimetrische Prüfung illusorisch.

Es empfiehlt sich, bei allen Methoden nur soviel Auslaugeflüssigkeit zu nehmen, als zur genügenden Extraktion unbedingt erforderlich ist, das Material gut zu zerkleinern und die Auslaugung im Eisschrank oder an einem kühlen Ort unter häufigem Umrühren oder Schütteln vorzunehmen. Das Resultat wird der Wirklichkeit um so näher kommen, je kleiner die Menge der Auslaugeflüssigkeit zum gesuchten Blutquantum ist. Man bedeckt also das Material nur eben damit und verschließt das Gefäß sorgfältig, um Verdunstung, die Fehlerquellen gibt, zu vermeiden. Das verdunstete Quantum Flüssigkeit muß vor dem Versuch nachgefüllt werden. Vor der Untersuchung wird das Material noch einmal gründlich umgerührt, ausgepreßt und eventuell noch ein- oder zweimal mit wenig Auslaugeflüssigkeit nachgewaschen, die natürlich zu der ersten addiert wird.

Die gröberen Verunreinigungen lassen sich durch Zentrifugieren entfernen; zur biologischen Prüfung ist ein- oder zweimal mehrmalige Filtration unerläßlich, zur Prüfung mit Sahlis Hämometer dagegen nicht erforderlich.

Endlich sei noch eine von Mita (Mitt. aus der Mediz. Fakultät Tokyo 8, 3 (1909), S. 328) kürzlich angegebene Methode erwähnt. Mita laugt das Objekt 24 Stunden in physiol. Na Cl-Lösung aus und bestimmt den Eiweiß- bzw. Stickstoffgehalt der Auslaugeflüssigkeit sowie den des Blutes der Leiche, von welcher der Bluterguß vermutlich her stammt, nach Kjeldahl. Nach der Formel $a:100 = b:x$, wo a N-Gehalt des Leichenblutes, b N-Gehalt der Auslaugeflüssigkeit und x gesuchte Blutmenge bedeutet, lasse sich letztere berechnen. In blutgetränkter Watte, Erde, Asche konnte Mita noch nach 6½ Monaten, in Leinen noch nach einem Jahre die ganze Blutmenge wiederfinden. Fehlerquellen seien nur durch Beimischung andersartigen Eiweißes zu erwarten, die aber gering und belanglos seien.

Literatur.

- A d l e r , O. u. R., Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, 59 (1904).
- A l k a n , Über den Einfluß der Salzkonzentration auf die Präzipitinreaktion. Diss. Würzburg 1903.
- A r t h u s - V a n s t e e n b e r g h e , Un nouveau procédé d'obtention et de conservation d'un sérum précipitant le sérum du sang humain. Compt. rend. de la soc. de biol. 1902, 251.
- A s a k a w a , Über das Wesen der Agglutination und eine neue Methode, die Agglutination schnell zu beobachten (Gefriermethode). Zeitschr. f. Hyg. **45**, 93 (1903).
- A s c a r e l l i , Der Nachweis von Blutspuren mittels der Benzidinprobe in forensischer Beziehung. Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 53.
- A s c o l i , Passiert Eiweiß die plazentare Scheidewand? Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 498.
- Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung und der Eiweißkörper des Blutserums. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 34, 1409.
- Isoagglutination und Isolysine menschlicher Blutsera. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 31, 1229.
- Sul passaggio delle precipitine da madre al feto. Atti del Congr. internaz. di ost. e gin. Roma 1903.
- A s p e l i n , Über den Nachweis von Menschenblut in suspekten Flecken. Hygiea **8**, 801 (1905).
- A u s t i n , Limitation of the Uhlenhuth test for the differentiation of human blood. Boston med. and surg. Journ. **122**, 279.
- B a l l n e r - v. S a g a s s e r , Über die Bildung von homologen und heterologen Agglutininen im Tierkörper. Arch. f. Hyg. **51**, 245.
- B a l t h a z a r d , La réaction précipitante des sérums en médecine légale. Gaz. des hôpitaux, 31. März 1905, S. 363.
- - B o u c h a r d , Identification d'une empreinte de main ensanglantée sur un drap. Compt. rend. des séanc. de l'acad. des scienc. Paris 1908.
- B a l y - W a c h s m u t h , Spektroskopie. Julius Springer, Berlin. 1908.
- B a r t h e , Le diagnose de sang humain par la réaction Bordet-Uhlenhuth. Fol. haematol. II, 1905, 332. Bull. soc. Ph. Bordeaux 1902, 47, 87, 289; 1903, 201. Gaz. hebdomad. des scienc. méd. de Bordeaux 1903, 401.
- B a r r u e l , Mémoire sur l'existence d'un principe propre à caractériser le sang de l'homme et celui de diverses espèces d'animaux. Ann. d'hygiène 1829, 267.
- B a s t e r o L e r g a , Procedimiento biológico para el Reconocimiento Médico-legal del origen de las Manchas de Sangre. M. Escar. Zaragoza 1902.

- B a t e l l i, L'anaphylaxie vis à vis des globules sanguins chez les animaux immunisés. Bull. de la Soc. de biol., 11. März 1905, **48**, 450. Fol. haematol. II, 1905.
- B a u e r, Über die Spezifität der biologischen Eiweißdifferenzierung. Arbeiten aus dem Königl. Institut f. experimentelle Therapie zu Frankfurt, Heft 3, 1907.
- B e i n t k e r, Zur Wirkung verschiedener Reduktionsmittel auf Verbindungen des Hämoglobins. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **35**, 262 (1908).
- B e l f a n t i u. C a r b o n e, Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeno. Giorn. del R. accad. di med. di Torino 1898, IV. Luglio.
- B e l j a e f f, Über die Bedingungen der Bildung spez. Krausscher Niederschläge. Zentralbl. f. Bakter. **32**.
- B e r e s t n e f f, Über Eintrocknung des Antiserums auf Papier. Russ. Wratsch 1905, Nr. 22.
- B e t h e, Beitrag zur Kenntnis der Zahl- und Maßverhältnisse der roten Blutkörperchen. Schwalbes Morphol. Arbeiten 1891, 207.
- B e u m e r, Die Untersuchung von Menschen- und Tierknochen auf biologischem Wege. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902, 829. Verhandl. der Naturforscher-Vers. Breslau 1903.
- B i f f i, Sulla emoagglutinina del sangue umano e sulla tecnica della agglutinatione in generale. Ann. d'igiene sper. **18**, 232 (1903).
- B i n d a, Diagnosi specifica del sangue. Giorn. dimed. legale 1901, Nr. 4.
- B i o n d i, Beitrag zum Studium der biologischen Methode für die spezifische Diagnose des Blutes. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **32** (1902). Suppl. I.
- B i r c h m o r e, The identification of the blood of individuals. New York med. journ. 1900, Nr. 10.
- B i z z o z e r o, Manuale di microscopia clinica. Milano 1882.
- B l u m, Über Präzipitine. Zentralbl. f. Pathol. 1881, Nr. 17.
- B o j a n o w s k i, Beobachtungen über die Blutkristalle. Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie **12**, 312 (1863).
- B o l l a n d, Zur Kenntnis der Guajakreaktion. Zeitschr. f. anal. Chem. **46**, 621.
- B o n h o f f - T s u z u k i, Über die Schnellimmunisierungsmethode von Fornet-Müller. Zeitschr. f. Immunit.-Forschung, Bd. IV, 1909.
- B o r d e t, Le mécanisme de l'agglutination. Ann. Inst. Pasteur 1899, 225.
- Les sérums hémolytiques. Ann. Inst. Pasteur 1900, 257. Bull. de la soc. royal des scienc. méd. et nat. Bruxelles **59**, 174.
- u. G a y, Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. Ann. Inst. Pasteur 1906, 467.
- B r e t e a u, Sur la valeur de la teinture gaïac comme réactif des agents d'oxydation. Journ. de pharm. et de chimie, **7** 569 (1898).
- B r e z i n a, Zur Frage der Bildungsstätte der Antikörper. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 35, S. 905.
- B r u c k, Zur forensischen Verwertbarkeit und Kenntnis des Wesens der Komplementbindung. Berlin. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 47.
- Die biologische Differenzierung von Affenarten und menschlichen Rassen durch spezifische Blutreaktion. Berlin. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 26, 793.
- Die Serodiagnose der Syphilis. Julius Springer, Berlin. 1909.
- Leers, Blutuntersuchung.

- Brücke, Van Deens Blutprobe und Vitalis Eiterprobe. Wien 1889. Staatsdruckerei.
- Über die gerichtsärztliche Untersuchung von Blutflecken. Wien. med. Wochenschr. 1857, 425.
- Bryk, Blutkristalle und ihre Bedeutung bei forensen Blutuntersuchungen. Wien. med. Wochenschr. 1858, 729.
- Budge, Sitzungsbericht der Niederrhein. Ges. f. Nat.- u. Heilkunde. 12. Dez. 1850.
- Bürker, Über den Nachweis des Hämoglobins und seiner Derivate durch Hämochromogenkristalle und die im violetten oder ultravioletten Teile des Spektrums dieser Farbstoffe gelegenen Absorptionsstreifen. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 3.
- Butza, Un nouveau moyen pratique pour distinguer le sang de l'homme. Compt. rend. de la soc. de biol. **54**, 406—407 (1902). Zeitschr. f. Med.-Beante 1903, Nr. 13.
- Camus, Spécificité et condition d'action des précipitines. Compt. rend. de la soc. de biol. 1901.
- Cantacuzène, Apparition de précipitines dans le sang consecutivement à l'inoculation de sérum chez des lapins qui ont reçu une injection d'aleurone dans le péritoine. Soc. de biol. **58**, 429 (1907).
- Recherches sur l'origine des précipitines. Ann. de l'Inst. Pasteur 1908, I. Ann. de la soc. de biol. **43**, 393.
- Capogrossi, Isoagglutinine ed isolisine del siero umano. Ann. d'igiene sperim. 1903, 552.
- Carnwath, Zur Technik der Untersuchung kleinster Blutspuren. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt **27**, 2 (1907).
- Carrara, Siero precipitante specifico per il sangue attenuato mediante iniezioni di nucleoproteidi. Rivista critica di Clin. med. III, 1902, 37.
- Sulla diagnosi specifica di sangue umano. L'arte medica 1900, Nr. 33; 1901, Nr. 34. Arch. di psych., med. leg. ed anthrop. **25**, 332 (1904).
- Casanti, Nouvelle manière de distinguer le sang humain de celui des autres mammifères. Journ. de chimie méd. 1848, 673.
- Casper u. Casper-Liman, Praktisches Handbuch der gerichtlichen Medizin nach eigenen Erfahrungen. Berlin 1857—1858 bzw. 1876.
- Castellani, Some experiments on the precipitins. Lancet 28. Juni 1902. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 32.
- Centanni, Über Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. Zentralbl. f. Bakteriologie. **35**, 1904. Rif. med. IV, 1900—1902. Lo Sperimentale 1902.
- Cevdalli, Un nuovo e semplice processo per ottenere preparati permanenti di cristalli di emocromogeno. Arch. di psych. e med. leg. **26**, 3, 316 (1905).
- Sul reattivo di Schönbein nella diagnosi generica del sangue. Arch. di psych. **26**, 144 (1905).
- Chiò, Il sangue del Orang-utan più affine al sangue dell'uomo che a quello della scimmia non antropoide. Med. R. Accad. Sc. **41**, 13 (1906).
- Copeman, The medico-legal detection of human blood. St. Thomas's hosp. rep. 1890, 95.
- Coraini, Contributo al capitolo di medicina legale relativo allo macchie di sangue. Giorn. di med. leg. 1897, I.
- Corin, Le séro-diagnostic du sang. Ann. de la Soc. de méd. lég. de Belgique 1901. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **23**, 61 (1902).
- Examen médico-légale des taches de sang. Arch. d'anthrop. crim. **16**, 94 (1901).

- C o r i n , La pyridine comme moyen d'extraction des taches de sang. Ann. soc. de méd. de Belgique 1904, 10.
- Sur les procédés les plus pratiques dans l'examen des taches de sang. Ann. de la soc. de méd. lég. de Belgique **17**, 1 (1905).
- C r e i t e , Versuche über die Wirkung des Serumeiweißes nach Injektion in das Blut. Zeitschr. f. ration. Med. **36**, 90 (1869).
- D a s k e , Zur Unterscheidung des Menschenblutes vom Tierblut nach van Itallie. Ärztl. Sachverst.-Ztg. 1907, Nr. 14.
- D ä u b l e r , Über die Unterscheidung menschlichen und tierischen Blutes durch Messung von Größenunterschieden roter Blutkörperchen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **17**, 258 (1899).
- v. D e c a s t e l l o u. S t u r l i , Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. Münch. med. Wochenschr. 1902, 1090.
- v a n D e e n , Tinctura guajaci und ein Ozonträger als Reagens auf sehr geringe Blutmengen. Arch. f. d. holländ. Beitr. z. Nat.- u. Heilk. **3**, 228 (1861—1864).
- D e h n e , Die spez. Löslichkeit und ihre Anwendung bei der forensischen Blutuntersuchung. Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 8. Win. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 29.
- D e l é a r d e - B é n o i t , Über den Nachweis des Blutfarbstoffes mit Meyerschem Reagens. Comptes rendus de la soc. de biol. **64**, 20 (1908).
- D e m e e s , Précipitines et Précipitables. La Cellule **24**, 315 (1907).
- D e n n s t e d t u. V o i g t l ä n d e r , Der Nachweis von Schriftfälschungen, Blut, Sperma usw. Baumerts Lehrb. der gerichtl. Chem. II, 1906.
- D e u t s c h , Die forensische Serumdiagnose des Blutes. 13. Congr. internat. de méd. Paris 1900. Zentralbl. f. Bakteriolog. **29**, 661 (1901): **16**, (1901). Deutsche med. Wochenschr. 1901.
- D i e u d o n n é , Beiträge zum biologischen Nachweis von Menschenblut. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 14.
- Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie. 4. Aufl. Leipzig 1905.
- D e D o m i n i c i s , Un nuovo e migliore modo per ottenere l'ematoporfirina alcalina. Giorn. di medic. leg. 1902, Nr. 9.
- Riconoscimento della carbosiemmo globina. Giorn. di med. leg. **2**, 76 (1904). Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **38**, 326 (1909).
- Reazioni chimiche del sangue. Giorn. di med. leg. **1**, 38 (1904).
- Sulla reazione Marx-Ehrnrooth. Giorn. di med. leg. 1904, 145.
- Sulla ipersensibilità dello spettro dell' emocromogeno. Morgagni 1904, 135. Giorn. di med. leg. 1904, 87. Berlin. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 38, 1219.
- Über Hämochromogenkristalle. Trabajos del Instituto de med. leg. de la R. Universita de Pavia 1902 und Berlin. klin. Wochenschr. Nr. 36, 1909, 1656.
- D o n a t h , Zur Kenntnis der agglutinierenden Fähigkeiten des menschlichen Blutes. Wien. klin. Wochenschr. 1900, Nr. 22. 497.
- D o n d e r s , Onderzoekingen over de bloedligchaampjes. Nederland Lancet **3**, 531 (1847—1848).
- D o n o g a n y , Über Hämochromogenkristalle. Virch. Arch. **148**, 234 und Budapest 1893 und Zentralbl. f. Physiol. **6** (1893) 629.
- Die Darstellung des Hämochromogens als Blutreaktion mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut im Harn. Arch. f. path. Anat. **148**, 234 (1897).

- Doepner, Vergleichende Untersuchung über die gerichtsärztliche Bedeutung einiger Methoden zum Nachweis von CO im Blut. Zeitschr. f. Med.-Beamte **8**, 281 (1909).
- Dragendorff, Untersuchung von Blutflecken. Maschkas Handbuch der gerichtlichen Medizin. Tübingen 1881—1882.
- Dürck, Neuere Forschungen über Eiweiß, Blut und Blutsverwandtschaft. Vortrag in d. Anthrop. Gesellschaft München, 25. Jan. 1907.
- v. Dungen, Bindungsverhältnisse bei der Präzipitinreaktion. Zentralblatt f. Bakteriologie. **34**, 355 (1903) und Münch. med. Wochenschr. 1899, Nr. 13.
- Die Antikörper. G. Fischer, Jena 1903.
- Die Spezifität der Antikörper. G. Fischer, Jena 1904.
- Dvornitschenko, Einige Beobachtungen über die Untersuchung von Blut- und Samenflecken. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **20**, 12 (1900).
- Ehrlich, Die Schutzstoffe des Blutes. Deutsche med. Wochenschr. 1901, 865, 888, 913.
- u. Morgenroth, Zur Theorie der Lysinwirkung. Berlin. klin. Wochenschr. 1899, Nr. 6; 1900, 1901.
- Neißer u. Sachs, Bericht über das Neißer-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch **19**, 1908.
- Ehrnrooth, Zur Frage des Nachweises individueller Blutdifferenzen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **28**, 64 (1904).
- Über die praktische Bedeutung der Alexinfixation (Komplementablenkung) für die forensische Blutdifferenzierung. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **32**, 276 (1906).
- Einhorn, Über eine neue Blutprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 27.
- Eisenberg, Untersuchungen über spez. Präzipitationsorgänge. Zentralbl. f. Bakteriologie. **31**, 15 (1902) und 1906. Bull. acad. de la soc. de biol. 1902, Mai.
- Über Isoagglutinine und Isolysine in menschlichen Seris. Wien. klin. Wochenschr. 1901, 1020. Zentralbl. f. Bakteriologie. Orig. **41**, 1, 3.
- u. Volk, Untersuchungen über Agglutination. Zeitschr. f. Hygiene 1902 und Wien. klin. Wochenschr. 1901, 1221.
- v. Eisler, Über die Spezifität der Bakterienpräzipitine. Wien. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 13.
- Über die Konservierung präzipitierender Sera auf Papier. Wien. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
- Emmerich, Oxychinaseptol oder Diaphtherin, ein neues Antiseptikum. Münch. med. Wochenschr. 1892, 325.
- Erpenbeck, Über chemische und mikroskopische Untersuchung auf Blutspuren in Kriminalfällen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **15**, 250 (1862).
- Farnum, The biological test for semen. Transactions of the Chicago path. soc. **5**, 3 (1901). Journ. of the american med. Assoc. 1901.
- Ferrai, Sulla diagnosi specifica del sangue col metodo biologico in medicina legale. Boll. R. accad. med. di Genova **16**, 7 (1901).
- Azione della putrefazione sulla reazione col metodo biologico. Boll. della R. accad. med. di Genova **19**, 3.
- Fiehe, Über den Nachweis von Pferdefleisch mittelst der Präzipitinreaktion. Zeitschr. f. Med.-Beamte **1**, 34 (1908). Ref. Zeitschr. f. Unters. der Nahrungsmittel **13**, 744.

- F i e h e , Über eine erweiterte Anwendung der Präzipitatreaktion. Zeitschr. f. die Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel **16**, 9 (1908).
- F l e i s c h m a n n , Die bei der Präzipitation beteiligten Substanzen in ihrem Verhalten gegenüber photodynamischen Stoffen. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 15, 693.
- u. M i c h a e l i s , Die Formulierung der Präzipitinreaktion nach Hamburger und Arrhenius. Biochemische Zeitschr. **3**, 5—6 (1907).
- F l o r e n c e , Les taches de sang, leur signification, leur importance en médecine légale. Thèse de Lyon 1885. Arch. d'anthrop. erim. 1901, 255.
- Peut-on distinguer le sang d'un homme du sang d'un autre homme? Arch. d'anthrop. crim. 1904, 215.
- Über die Untersuchung von Blutspuren im reflektierten Licht. Arch. générales d'anthrop. crim. 1907, 162.
- F o d o r , Kohlenoxyd in seinen Beziehungen zur Gesundheit. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **12**, 377 (1880).
- F o r d , Beiträge zur Lehre von den Hämagglutininen. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten 1902, 2.
- u. H a l s e y , Fol. haematol. 1904.
- F o r m á n e k , Die qualitative Spektralanalyse anorganischer und organischer Stoffe. Berlin 1905. Mückenberger.
- F o r n e t , Die Präzipitinreaktion. Münch. med. Wochenschr. 1906, 1682.
- u. M ü l l e r , Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera, insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch. Zeitschr. f. biolog. Technik **1**, 3.
- F o r ß n e r , Über die Möglichkeit, isolierte Eiweißkörper bzw. eiweißhaltige Flüssigkeiten, welche aus einem und demselben Organismus stammen, durch die Präzipitinreaktion zu differenzieren. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 19.
- F r a e n k e l , Die Mikroskopie von Blutspuren im reflektierten Licht. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **35**, 1908, Suppl. Ärztl. Sachverst.-Ztg. 1909, Nr. 24.
- F r i e d b e r g e r , Zur Technik der intraperitonealen Injektionen. Zentralblatt f. Bakteriologie. **39**, 718 (1905).
- Zur forensischen Eiweißdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittelst Komplementablenkung nebst Bemerkungen über die Bedeutung des Präzipitats für dieses Phänomen. Deutsche med. Wochenschr. 1906, 578.
- Über das Verhalten der Präzipitate gegenüber der Fäulnis. Zentralblatt f. Bakteriologie. **43**, 490 (1907).
- F r i e d e m a n n u. F r a n c e s c h e l l i , Beitrag zum Studium der Präzipitine. Arch. f. Hyg. **69**, 222 (1909).
- F r i e d e n t h a l , Über einen experimentellen Nachweis von Blutverwandtschaft. Arch. f. Anat. u. Physiol. (phys. Abteilung) 1900, 494; 1904, 387. Berlin. klin.-therap. Wochenschr. 1904, Nr. 12.
- F u h r m a n n , Über Präzipitine und Lysine. Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. **3**, 1903.
- F u l d , Über das Bordetsche Laktoserum. Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. **2**, 1902.
- G a f f k y u. W a s s e r m a n n , Bericht über das Neißer-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch **19**, 1908.
- G a l l i - V a l e r i o , Die Agglutination der roten Blutkörperchen des Menschen durch homologe und heterologe Sera und ihre Verwendung in der gerichtlichen Medizin. Allgem. med. Zentralztg. 1905, Nr. 3.

- G a n g h o f n e r u. L a n g e r, Über die Verwertbarkeit des Phänomens der Komplementablenkung zum Nachweis von artfremdem Eiweiß im Blut. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 17.
- G a n t t e r, Zum Nachweis von Blutflecken in gerichtlichen Fällen. Zeitschr. f. anal. Chem. 1895, 159.
- G a y, The fixation of alexines by specific serum precipitates. Zentralbl. f. Bakteriologie. **39**, 5, 603 (1905). Ann. Pasteur, Oktober 1905.
- G e n g o u, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes. Ann. Inst. Pasteur 1902, 734.
- G i e s e, Über die Beeinflussung des spektroskopischen Blutnachweises durch die Gegenwart organischer Farbstoffe. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **30**, 225 (1905).
- G i r a r d - M a n g i n u. H e n r i, Agglutination des globules rouges par l'hydrate ferrique, le chlorure de sodium et différents sérums. Compt. rend. de l'acad. des scienc. 1904, 1461.
- G r a h a m - S m i t h, The biological or precipitin test for blood considered mainly from its medico-legal aspect. Journ. of hygiene 1903, 354.
- G r i g o r e s c u, Sur la possibilité de distinguer les hématies de l'homme des hématies des autres mammifères. Compt. rend. de la soc. de biol. 1892, 325.
- G r i g o r j e w, Zur Frage der Technik bei der Untersuchung von Blut- und Samenflecken in gerichtlich-medizinischen Fällen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **24**, 82 (1902).
- G r o ß, Im Handbuch für Untersuchungsrichter und im Handbuch der ärztl. Sachverst.-Tätigkeit von Dittrich. Bd. I, 1908. Wien. Braumüller.
- G r u b e r, Zur Theorie der Antikörper. Münch. med. Wochenschr. 1899, 1329; 1901, 1827; 1880, 1924, 1965.
- G r ü n b a u m, Note on the „Blood-Relationship“ of man and the anthropoid apes. The Lancet 1902, 143. Januar.
- G r u n d, Über organspezifische Präzipitine und ihre Bedeutung. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **86**, 148 (1906) u. Münch. med. Wochenschr. 1906, 481.
- d e H a a n, Over de onderzaak van bloedvlekken. Geneskundig Tydshrift van Nederlandsch Indie, Deel 48, aflevering 3, 1908. Ref. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **13**, 1 (1909).
- H a l b a u u. L a n d s t e i n e r, Zur Frage der Präzipitationsvorgänge. Zentralbl. f. Bakteriologie. **32**, 457 (1902).
- — Über Unterschiede des fötalen und mütterlichen Blutserums und über eine agglutinations- und fällungshemmende Wirkung des normalen Serums. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 12.
- H a m b u r g e r, Biologisches über die Eiweißkörper der Kuhmilch und über Säuglingsernährung. Wien. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 49.
- Zur Frage der Immunisierung gegen Eiweiß. Wien. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 45.
- Arteigenheit und Assimilation. Wien 1903.
- Zur Untersuchung der quantitativen Verhältnisse bei der Präzipitinreaktion. Fol. haematol. **2**, 539 (1905). Biochem. Zentralbl. **4**, 441 (1905). Ref.
- Zur Differenzierung des Blutes (Eiweiß) biologisch verwandter Tierpezies. Deutsche med. Wochenschr. 1901 u. 1905.
- u. M o r o, Über die biologisch nachweisbaren Veränderungen des menschlichen Blutes nach Seruminjektion. Wien. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 15.

- H a m b u r g e r u. v. R e u ß , Die Folgen parenteraler Injektion von verschiedenen genuinen Eiweißkörpern. Wien. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 31.
- u. S p e r k , Biologische Untersuchungen über Eiweißresorption vom Darm aus. Wien. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 23.
- H a m m e r l , Untersuchungen über einige den Blutnachweis störende Einflüsse. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 4, 44 (1892).
- H a u s e r , Über einige Erfahrungen bei Anwendung der serodiagnostischen Methode für gerichtliche Blutuntersuchungen. Münch. med. Wochenschr. 1904, 289. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 16.
- Über die Leistungsfähigkeit des Uhlenhuthschen serodiagnostischen Verfahrens bei Anwendung der Kapillarmethode. Festschrift für J. Rosenthal. 1906.
- H a y e m , Du sang et ses altérations anatomiques. Paris 1889.
- v. H o f m a n n , Einiges über forensische Untersuchung von Blutspuren. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 19, 89 (1873).
- - K o l i s k o , Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Wien 1907.
- H o n l , Über die biologischen Untersuchungen von verschiedenen Blutarten. Wien. klin. Rundschau 1901, Nr. 27.
- H o p p e - S e y l e r , Über das Verhalten des Blutfarbstoffes im Spektrum des Sonnenlichts. Arch. f. path. Anat. 23, 446 (1862). Zeitschr. f. physiol. Chem. 13, 477 (1889).
- — Über die Einwirkung des Kohlenoxydgases auf das Blut. Virch Arch. 13, 104.
- H o r i u c h i , Münch. med. Wochenschr. 1908, 900.
- v. H o r n , Über den Einfluß der Temperatur auf die Präzipitinreaktion. Diss. Würzburg 1903.
- v. H o r o s z k i e w i c z - M a r x , Nachweis von Kohlenoxyd im Blut. Berlin. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 35, 1156.
- H u e n e f e l d , Die Blutproben vor Gericht und das Kohlenoxydblut in bezug auf die Asphyxie durch Kohlendunst. Leipzig 1875.
- H u s s o n , Recherche du sang sur les vêtements qui ont été lavés. Compt. rend. de l'acad. des scienc. 1883, 955.
- J a k o b s t h a l , Über trockne Konservierung agglutinierender und präzipitierender Sera. Arch. f. Hygiene 48, 207 (1903).
- J a n ě k , Die Grenzen der Beweiskraft des Hämatinspektrums und der Häminkristalle für die Anwesenheit von Blut. Agram 1880.
- I d e , Über Antikörper des chemisch reinen Eiweißes. Fortschr. d. Med. 19, 1901. Bull. de l'acad. royale de méd. de Belgique 1903, 913.
- Hémolyse et Antihémoglobine. La cellule 20 (1902).
- I l b e r g , Das Blut des Menschen und der Tiere in forensischer Beziehung mit besonderer Berücksichtigung der neutrophilen Granulationen. Diss. Berlin 1875.
- J o o s , Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. Zeitschr. f. Hygiene 40, 203 (1901). Zentralbl. f. Bakteriologie 30, 853 (1901).
- I p s e n , Beiträge zum spektralen Blutnachweis. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 15, 127 (1898); 18, 46 (1899); 19, 1 (1900).
- Über den Wert der Hämatoporphyrinprobe für den forensischen Blutnachweis. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 20, 1 (1900).
- v a n I t a l l i e , On catalases of the blood. Koninglyke Akad. van wetenschappen he Amsterdam. Berichte d. Deutsch. pharm. Gesellschaft 16 (1906).
- K a l m u s , Der mikroskopische Nachweis von Blutspuren an undurchsichtigen Objekten. Prager med. Wochenschr. 1908, Nr. 12, 147.

- K a m e n , Über die biologische Methode des forensischen Blutnachweises. Wien. med. Wochenschr. 1904, 1533, 1572, 1625.
- K a t a y a m a , Über das forensisch wichtige Verhalten von Blutspuren zu verschiedener Temperatur. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **49**, 269 (1888).
- Über eine neue Blutprobe bei der Kohlenoxydvergiftung. Virch. Arch. **114**, 53 (1888).
- K i s t e r u. W e i c h a r d t , Weiterer Beitrag zur Frage des biologischen Blutnachweises. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902, Nr. 60.
- u. W o l f f , Zur Anwendung der Uhlenhuthschen Reaktion. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902, Nr. 7. Zeitschr. f. Hygiene **41**, 410 (1902).
- K l e i n , Beitrag zur Kenntnis der Agglutination roter Blutkörperchen. Wien. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 16; 1903, Nr. 5—6.
- Zur Frage der Antikörperbildung. Wien. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 29.
- Über die Spezifität der Erythropräzipitine. Wien. klin. Rundschau 1904, Nr. 24. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 41. Zentralbl. f. Bakteriolog. **39**, 1905.
- Über die Beeinflussung des hämolytischen Komplementes durch Agglutination und Präzipitation. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 48.
- K l o t z , Einige Fehlerquellen bei der Agglutinationsprobe. Journ. americ. med. assoc. **44**, 1258 (1905). Fol. haematol. **3**, 757 (1906).
- K l u c k u. I n a d a , Ein Beitrag zur Spezifität der Präzipitine. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **81**, 411.
- K o b e r t , R., Beitrag zur Kenntnis der Methämoglobine. Pflügers Arch. **82**, 603 (1900). Lehrb. d. Intoxik. Enke, Stuttgart. 1893.
- H. U., Das Wirbeltierblut in mikrokristallographischer Hinsicht. 1901. Verlag von Enke.
- K o c k e l , Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Vortrag. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 3.
- Mikroskopische Untersuchung von Blutflecken. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **35**, 1908. Suppl. Schmidtmanns Handb. d. gerichtl. Med. 1905. Hirschwald, Berlin.
- K ö l l i k e r , Mikroskopische Anatomie. Leipzig 1854.
- K ö n i g , Über den Wert des Uhlenhuthschen Blutnachweises für die gerichtliche Medizin. Reichs-Med.-Anz. 30. Jahrg. 6. Jan. 1905).
- K ö p p e , Form und Volumen der roten Blutscheiben. Fol. haematol. **2**, 334 (1905).
- K ö r b e r , Die Differenzen des Blutfarbstoffes. Diss. Dorpat 1866.
- K o w a r s k i , Über den Nachweis von pflanzl. Eiweiß auf biol. Wege. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 27.
- K r a t t e r , Über den forensischen Wert der biologischen Methode zur Unterscheidung von Tier- und Menschenblut. Arch. f. Krim.-Anthrop. **10**, 199 (1903). Wien. med. Wochenschr. 1903, Nr. 24.
- Über den Wert des Hämatoporphyrinspektrums für den forensischen Blutnachweis. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **4**, 62 (1892).
- K r a u s , Über die diagnostische Verwertbarkeit der spezifischen Niederschläge. Wien. klin. Wochenschr. 1901, 693 u. Handbuch Kolle-Wassermann.
- Über biologische Reaktionen. Monatsschr. f. Gesundheitspflege 1902, Nr. 7 u. 8.
- Zur Theorie der Agglutination. Zeitschr. f. Heilkunde 1902.

- K r a u s , Über spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus-, Pestbazillenkulturen, erzeugt durch homologes Serum. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 32.
- u. L e v a d i t i , Über die Bildungsstätte der Antikörper. Compt. rendus 1904, 5. April. Biochem. Zentralbl. 1905, 698. Ref.
- u. v. P i r q u e t , Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. Zentralbl. f. Bakteriologie. **32**, 1902.
- u. S c h i f f m a n n , Über die Bildungsstätte der Antikörper. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 40, 1033. Ann. de l'Inst. Pasteur 3, 1909; **20**, 225 (1906).
- K r ü c k o w , Über eine neue Methode zur Unterscheidung des Blutes von Menschen und Tieren. Vortrag in d. Gesellsch. v. Freunden d. Naturkunde. 1901.
- K u r t e k , Verfahren, Sera für den Nachweis bestimmter Blutarten herzustellen. Patentiert im Deutschen Reiche vom 4. Oktober 1902 ab. Patentschrift Nr. 147 782, Klasse 30 h.
- K ü r b i t z , Der forensische Nachweis des Hämochromogens und seiner Kristalle. Ärztl. Sachverst.-Ztg. 1909, Nr. 7.
- K u r p j u w e i t , Zur Verfeinerung des spektroskopischen CO-Nachweises. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **34**, 14 (1907).
- K ü s t e r , Über den gerichtlichen Nachweis von Blut. Zeitschr. f. angew. Chem. 1902, 1317.
- L a d e n d o r f , Über die Erkennung von Blut durch Oleum eucalypti. Berlin. klin. Wochenschr. 1880, 54.
- L a n d o i s , Zur Lehre von der Bluttransfusion. Leipzig 1875.
- L a n d s t e i n e r , Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. Wien. klin. Rundschau 1902, 774. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 40. Wien. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 46, 1132. Zentralbl. f. Bakteriologie. **27**, 357 (1900).
- Über Beziehungen zwischen dem Blutserum und den Körperzellen. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 42, 1812.
- u. R i c h t e r , Über die Verwertbarkeit individueller Blutdifferenzen für die forensische Praxis. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1903, Nr. 3.
- u. v. E i s l e r , Zur Arbeit von Hans Friedenthal: „Weitere Versuche über die Reaktion auf Blutverwandtschaft.“ Wien. klin.-therap. Wochenschr. 1904, Nr. 24.
- u. L e i n e r , Über Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blute. Zentralbl. f. Bakteriologie. **38**, 5 (1905).
- L a n g e r , Über Isoagglutinine beim Menschen. Zeitschr. f. Heilkunde 1903, Nr. 24, S. 111, wo zahlr. Literatur.
- L e b l a n c , Contributions à l'étude de l'immunité acquise. La Cellule **18**, 2 (1901) u. 1903. Paris, Vigot frères.
- L e c h a - M a r z o , Un nuovo processo per ottenere i cristalli di emocromogeno e di iodo-ematina. Arch. di psichiat. 1905, 663. Rev. de med. y cirurg. pratic. **30**, 923 (1906). Gac. méd. del sur de España Granada **26**, 23 (1908).
- — Demonstración de manchas de sangre. Rev. Ibero-Americana de Clie. médic. Madrid, März 1909.
- L e e r s , Über Photomethämoglobin. Biochem. Zeitschr. **12**, 3—4 (1908).
- Methoden und Technik der Gewinnung, Prüfung und Konservierung des zum forensischen Blut-, bzw. Eiweißdifferenzierungsverfahren dienenden Antiserums. Verlag v. R. Schoetz, Berlin 1908.
- Die Ausschaltung organischer Farbstoffbeimengungen beim spektroskopischen Blutnachweis. Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 5.

- L e e r s , Zum spektroskopischen Nachweis kleinster Blutspuren. Vortrag auf der 80. Vers. deutscher Naturforscher u. Ärzte zu Köln, 21. Sept. 1908. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **37**, 1909, Suppl. Arch. di Farmacol. sperim. **7**, 1908.
- Über quantitative Blutbestimmung. Vortrag auf der 80. Vers. deutscher Naturforscher u. Ärzte zu Köln, 21. Sept. 1908. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **37**, 1909, Suppl.
- Studien über die Spezifität der Serumpräzipitine und der Erythropräzipitine. Im Erscheinen begriffen.
- L e n h a r t z , Mikroskopie und Chemie am Krankenbett. 5. Auflage. Berlin 1907. Springer.
- L e s s e r , Atlas der gerichtlichen Medizin. Berlin 1883—1884.
- L e v e n e , Fol. haematol. **2**, 1905.
- L e w i n u. R o s e n s t e i n , Untersuchungen über die Häminprobe. Arch. f. path. Anat. **142**, 134 (1895).
- L i e b e r m a n n , Über die Guajakreaktion. Arch. f. d. ges. Physiol. 1904, 104, 207, 227.
- L i e f m a n n , Über die Komplementablenkung bei Präzipitationsvorgängen. Berlin. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 15.
- L i e p m a n n , Über ein für menschliche Placenta spezifisches Serum. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 51; 1903, Nr. 5 u. 22. Zentralbl. f. Bakteriol. 1903, 863.
- L i m a n , Neue Versuche zur Erkennung von Blutflecken und zur Prüfung von van Deens Blutprobe. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **24**, 193 (1863). Arch. f. path. Anat. **104**, 394 (1886).
- L i n o s s i e r , Sur la recherche médico-légale de l'origine du sang à l'aide des sérums précipitants. Sem. méd. **22**, 104.
- u. L e m o i n e , Sur la spécificité des sérums précipitants. Compt. rend. de la soc. de biol. **54**, 85, 176, 320, 369 (1902).
- L i s l e , The identification of human blood. New York med. Journ. **81**, 456.
- L o c h t e , Demonstration des Nachweises von Menschenblut. Göttinger psychologisch-forensische Vereinigung. 1. Nov. 1907. Monatsschrift für Kriminalpsychiatrie u. Strafrechtsreform 1907. (C. Winters Universitätsbuchhandlung, Heidelberg.)
- L ö f f l e r , Über ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 52, 1913.
- u. U h l e n h u t h , Bericht über das Neißer-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch **19**, 1908.
- L o e l e , Über die Anwendung von Formalin bei dem Uhlenhuthschen Verfahren. Münch. med. Wochenschr. 1906, 1053.
- M a g n a n i m i , Sulle machie di sangue e sulla possibilità di differenziare il sangue umano da quello degli animali domestici. Riv. di med. leg. **2**, 33 (1898—1899).
- M a l i n i n , Über die Erkennung des menschlichen und tierischen Blutes in trockenen Flecken in gerichtlich-medizinischer Bedeutung. Arch. f. path. Anat. **65**, 528 (1875).
- M a l k o f f , Beitrag zur Frage der Agglutination der roten Blutkörperchen. Deutsche med. Wochenschr. 1900, Nr. 14, 229.
- M a n a s s e i n , Über die Dimensionen der roten Blutkörperchen unter verschiedenen Einflüssen. Hirschwald, Berlin 1872.
- M a n d l , Recherches médico-légales sur le sang. Gaz. méd. de Paris 1842, 10, Nr. 560.

- Maragliano, La modalità di presipitazione degli anticorpi e la sua applicazione in patologia. *Gaz. d. Osp.* 1904, Nr. 124. *Berliner klin. Wochenschr.* 1904, Nr. 27.
- Mariscal y Garcia, Examen de manchas de sangre y reconocimiento del origen de ellas. *Siglo médico* **36**, 311 (1889).
- Markl, Zur Agglutination der Pestbazillen. *Zentralbl. f. Bakteriologie* **39**, 1901.
- Marshall u. Teague, A study of the precipitin and complement fixation reactions. *The Philippine Journ. of Science* **3**, 5 (1908).
- Martin, Isoagglutination beim Menschen nebst Bemerkung zur Marx-Ehrnroothschen Blutdifferenzierungsmethode. *Zentralbl. f. Bakteriologie* **39**, 704 (1905).
- Marx, Über den Nachweis von Blutkörperchen mittelst Chinin. *Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med.* **26**, 38 (1903).
- *Praktikum der gerichtlichen Medizin.* Verlag v. A. Hirschwald, Berlin 1907.
- - Ehrnrooth, Eine einfache Methode zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Säugetierblut. *Münch. med. Wochenschr.* 1904, 293, 696. *Zeitschr. f. Med.-Beamte* 1904. *Ärztl. Sachverst.-Ztg.* 1904, 436.
- Masson, De l'origine du sang en médecine légale. *Ann. d'hyg.* 1885, 385, 530.
- DiMattei, Azione degli ossidanti e dei reductenti sul sangue in rapporto alla reazione col metodo biologico. *Giorn. di med. leg.* 1904, 252.
- Merkel, Über die Verwertung der Präzipitinreaktion. *Münch. med. Wochenschr.* 1904; 1908, Nr. 18.
- Über die Verwendung von Formalinlösungen bei der Uhlenhuthschen Blutuntersuchung. *Münch. med. Wochenschr.* 1906, Nr. 31.
- Mertens, Die neue Methode des Menschenblutnachweises. *Wien. klin. Rundschau* 1902, Nr. 9. *Deutsche med. Wochenschr.* 1901, Nr. 11.
- Metschnikoff, L'immunité. Paris 1902.
- Michaelis, Inaktivierungsversuche mit Präzipitinen. *Zentralbl. f. Bakteriologie* **22**, 458.
- Die Eiweißpräzipitine. *Biochem. Zentralbl.* **3**, 693 (1905). *Deutsche med. Wochenschr.* 1902, Nr. 41. 733; 1904, Nr. 34, 1240. *Zeitschr. f. klin. Med.* **56**, 5—6 (1905).
- Über Hemmungen der Präzipitinreaktion. *Hofmeisters Beiträge z. Phys. u. Path.* V, 1903.
- u. Fleischmann, Über Bindungsverhältnisse zwischen Präzipitin und präzipitabler Substanz. *Zeitschr. f. exper. Path. u. Therapie* **1**, 1905.
- Michelson, Die Differentialdiagnose von Menschen- und Tierblut in der forensischen Praxis. *Friedreichs Blätter f. gerichtl. Med.* 1906, **9**, 116, 204, 285, 381.
- Minovici, Über die neue Methode zur Unterscheidung des Blutes mittels Serum. *Deutsche med. Wochenschr.* 1902, Nr. 24. Bericht der Deutschen pharmak. Gesellsch. 1903, 274.
- Miquel, Über die Ausmittelung von Blutspuren. *Deutsche Klinik* 1860, 83.
- Mirto, Sul valore del metodo biologico per la diagnosi specifica del sangue nelle varie contingenze della pratica medico-legale. *Riforma med.* 1901, 855.

- Mirto, Ricerche microchemiche e spettroscopiche sulle macchie di sangue modificati per azioni di agenti, e sul valore dell'ematoporfirina nella diagnosi medico-legale del sangue e delle ecchimosi cutanei. Giorn. di med. leg. 1901, 93.
- Sul valore della reazione di Meyer nelle ricerche ematologiche forensi. Boll. R. accad. dei fisiocritici. Siena. Giugno 1908.
 - Ricerche comparative sul valore della reazione di Meyer e di Adler nelle ricerche ematologiche forensi. Boll. R. accad. dei fisiocritici. Siena. Luglio 1908.
- Misuraca, Sull'importanza della ricerca di emoglobina nell'esame delle macchie di sangue. Riv. sper. di freniat. 1889—1890, 5, 36.
- Modica, Arch. di Farmacol. speriment., Vol. VI, Fasc. 5, e Gaz. degli ospedali e delle cliniche 1907, Nr. 28.
- Metodo per determinare il diametro dei corpuscoli rossi. Atti del Convegno di Bormio dell'Unione zoologica Italiana 1908.
- Molitoris, Verhandlungen der Naturforscher-Vers. zu Köln 1908.
- Moll, Über Blutveränderungen nach Eiweißinjektionen. Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. 5, 12 (1903).
- Lo Monaco u. Panichi, Sul fenomeno dell'agglutinazione nel sangue dei malarici. Riforma med. 1901, 400 u. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 25.
- Morache, Contribution à l'étude des taches du sang humain en comparaison de celui d'autres animaux. Ann. d'hyg. 3, 322 (1880).
- Morgenroth, Über die Bindung hämolytischer Ambozeptoren. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 2.
- Moser, Hämoglobinkristalle zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 23, 44 (1901).
- Müller, Technik der serodiagnostischen Methoden. G. Fischer, Jena 1908.
- Mulzer, Praktische Anleitung zur Syphilisdiagnose auf biologischem Wege. (Spirochaetennachweis, Wassermannsche Reaktion.) Julius Springer, Berlin. 1910.
- Nagelschmidt, Gibt es latente Präzipitine? Zentralbl. f. Bakteriologie. Orig. 35, 5 (1904).
- Neißer u. Sachs, Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. Berlin. klin. Wochenschr. 1905, 1388; 1906, 67, 1580.
- Neresheimer, Über den Nachweis der Blutsverwandtschaft bei Fischen durch die Serumdiagnose. (Aus der Kgl. bayrischen biolog. Versuchsstation in München.) Allgem. Fischereiztg. 1908, Nr. 24.
- Neumann, Die Erkennung des Blutes bei gerichtlichen Untersuchungen. Leipzig 1869.
- Niceforo-Lindenaу, Die Kriminalpolizei und ihre Hilfswissenschaften. Langenscheidt, Groß-Lichterfelde 1909.
- Nieter, Ein Beitrag zur spektralen Blutuntersuchung. Diss. Berlin 1898.
- De Nobèle, Le sero-diagnostic et la différenciation individuelle du sang en médecine légale. Ann. de la soc. de méd. lég. de Belgique 16, 1 (1904). Ann. de la soc. de Gand 1901, 331.
- Nolf, Contribution à l'étude des sérums antihématiques. Ann. de l'Inst. Pasteur 14, 297, 656 (1900).
- Nuttall, Observations upon the biological test for blood. (Read 20. January 1902.) Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, Vol. XI, Pt. V. Brit. med. Journ. 1902. 5. April 1901.

- Nuttall, Blood immunity and blood relationship. Cambridge 1904.
- u. Inckley, An improved method of measuring the amount of precipitum in connection with test with precipitating antisera. Journ. of hyg. **4**, 2 (1904).
- Obermeyer, Über den Einfluß physikalischer und chemischer Zustandsänderungen präzipitinogener Substanzen auf die Bildung von Immunpräzipitinen. Ref. Wien. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 22.
- Beiträge zur Kenntnis der Präzipitinbildung. Wien. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 10.
- u. Pick, Über die chemischen Grundlagen der Arteigenschaften der Eiweißkörper. Wien. klin. Wochenschr. 1906, 327.
- Oberndorffer, Zur Technik der Blutentnahme. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 16, 778.
- Ogier, Über die Uhlenhuth-Wassermannsche Methode des Blutnachweises. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 26. Ann. de la soc. méd. chir. de Liège 1901.
- u. Herscher, Moyen de constater la présence du sang humain dans une tache de sang. Ann. d'hyg. publique et de méd. lég. **46**, 538.
- Okamoto, Untersuchungen über den forensisch praktischen Wert der serodiagnostischen Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **24**, 207 (1902).
- Über das Spektrum von Leichenmuskeln. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **27**, 49 (1904).
- Oppenheimer, Über das Schicksal der mit Umgehung des Darmkanals eingeführten Eiweißkörper im Tierkörper. Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1903.
- Orfila, Nouveau mémoire sur le sang, considéré sous le rapport médico-légal. Journ. de chimie méd. 1827, 365; 1828, 105. Ann. d'hyg. **34**, 112 (1845).
- Barruel u. Chevalier, Taches de sang: rapport médico-légal. Ann. d'hyg. **14**, 349 (1835).
- Ottolenghi, Über die Konservierung der präzipitierenden Sera. Wien. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 29.
- Pacini, Di un mezzo atto a facilitare l'esame microscopico delle macchie di sangue nelle questioni medico-forensi. Ann. di chim. applic. alla med. **43**, 1872.
- Palleske, Die Rieglersche Blutprobe und ihr Wert für die gerichtliche Medizin. Ärztl. Sachverst.-Ztg. **19**, 387 (1905). Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **29**, 331 (1905).
- Paltauf, Über Agglutination und Präzipitation. Deutsche med. Wochenschr. 1903, 946.
- Perrando, Sulla durata degli proprietà precipitanti dei sieri specifici. Giorn. di med. leg. **10**, 162 (1903).
- Pfaff, Über die Bestimmung des Alters der Blutflecken in Kriminalfällen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **21**, 266 (1862).
- Anleitung zur Vornahme gerichtsarztlicher Blutuntersuchung. Dresden 1863.
- Pfeiffer, Erfahrungen mit der Marx-Ehrnroothschen Methode zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 30, 1098.
- Über die nekrotisierende Wirkung normaler Seren. Zeitschr. f. Hygiene **15**, 183 (1905).
- Beiträge zur Lösung des biologisch-forensischen Problems der Unterscheidung von Spermaeiweiß gegenüber den anderen Eiweißarten

- derselben Spezies durch die Präzipitinmethode. Verhandlungen deutscher Naturforscher u. Ärzte in Meran 1905. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 24.
- P f e i f f e r, Über den Entwicklungsgang, über neue Ergebnisse und Bestrebungen der Präzipitinforschung. Arch. f. Kriminal-Anthropologie, **22**, 1906.
- u. W a g n e r, Erfahrungen mit der Blutdifferenzierungsmethode nach van Itallie. Verhandlungen der deutschen Gesellschaft f. gerichtl. Med. in Stuttgart 1906. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **33**, 1907, Suppl.
- Versuchstechnische Bemerkungen zum Nachweis des anaphylaktischen Temperatursturzes. Wien. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 36, 40.
- Über das verschiedene Verhalten der Körpertemperatur nach Injektion und nach Reinjektion von artfremdem Serum. Wien. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 1.
- u. M i t a, Studien über Eiweißanaphylaxie. Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IV, H. 4, 1909, S. 410.
- P i o r k o w s k i, Die spezifischen Sera. Zentralbl. f. Bakteriologie. **31**, 1902.
- Ein einfaches Verfahren zur Blutdifferenzierung. Bericht der Deutschen pharm. Gesellschaft 1906, 6.
- P l a u t, Die Wassermannsche Serodiagnostik der Lues in ihrer Anwendung auf die Psychiatrie. G. Fischer, Jena 1909.
- P o e l s t r a e n S t e e n s m a, Klinische Methoden voor het opsporen van bloed. Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1908, 3.
- P o n z i o, La reazione biologica per la diagnosi specifica del sangue. Gaz. med. siciliana 1904, Nr. 23.
- P r a u m, La différenciation du sang de l'homme et des animaux d'après un travail de M. le Professeur Uhlenhuth. Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég. 1906. (Paris, J. B. Baillières et Fils.)
- P r e t t n e r, Zur Konservierung der Immunsera für die Praxis. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten d. Haustiere **2**, 200.
- Die Bildung von Schutzstoffen im Fötalleben. Hygien. Rundschau 1906, 819. Ref. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten **1**, 45.
- P r i b a m, Über die Schwankungen der Präzipitinreaktion im normalen und pathologischen Serum. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **3**, 28 (1907).
- P u p p e, Über das Prinzip der Konservierung anatomischer Präparate in den natürlichen Farben. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **17**, 263 (1899).
- Die gerichtlich-medizinischen Untersuchungsmethoden. Festschrift zur Feier des 25 jährigen Bestehens des Preußischen Medizinal-Beamten-Vereins 1908. Verlag Fischers med. Buchhandlung.
- R e i c h e r t, Arch. f. Anat., Physiol. u. wissenschaftl. Med. 1849, 197 bis 521.
- R e e t z, Altes und Neues über Kohlenoxydvergiftung. Diss. Berlin 1906.
- R e z z o n i e o, Ancora sulla ripristinazione dei globuli di sangue. Riv. sper. di freniat. 1899—1900, 15, 214.
- R i c h t e r, Über Häminkristalle. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **20**, 12 (1900).
- Der mikroskopische Nachweis von Blut zu gerichtlich-medizinischen Zwecken. Friedreichs Blätter f. gerichtl. Med. 1900.
- Gerichtsärztliche Diagnostik und Technik. Wien 1905.
- R i c k m a n n, Beitrag zur biologischen Eiweißdifferenzierung. Zeitschr. f. Milch- u. Fleischhygiene 1907, Nr. 6.

- Riegler, Zeitschr. f. anal. Chem. 1904, 539.
- Ritter, Ermittlung von Blutflecken in Kriminalfällen. Stahel, Würzburg 1854.
- Robertson, Personal experiences in the determination of human blood by means of the precipitinserum test of Uhlenhuth. Scot. med. surg. journ. **18**, 321 (1906).
- Robin, A note on the employment of the haging-drop method in the study of hemoprecipitins. Philadelphia med. journ. **10**, 1019 (1902).
- A new biologic test for human blood with a report of its employment in a recent murder case. New York med. journ. 1904, 433, 500.
- Mémoire sur la comparaison médico-légale des taches de sang menstruel et des autres espèces de taches de sang. Ann. d'hyg. **10**, 421 (1858).
- Robin-Salmon, Mémoire concernant l'examen à l'aide du microscope des taches de sang sur une blouse de coton bleu. Ann. d'hyg. **8**, 368 (1857).
- Rose, Über die sichere Erkennung von Blut und Blutflecken bei gerichtlichen Untersuchungen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **4**, 295 (1853).
- Rossel, Beitrag zum Nachweis von Blut bei Anwesenheit anderer anorganischer und organischer Substanzen in klinischen und gerichtlichen Fällen. Deutsches Arch. f. klin. Med. 1903, 505.
- Rost-Franz-Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspektra. Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte **32**, 2 (1909).
- Die Photographie des Blutspektrums. Med. Klinik 1907, Nr. 7.
- Rostowski, Über den Wert der Präzipitinreaktion als Unterscheidungsmittel für Eiweiß. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 18 u. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5. Würzburger Abhandl. aus dem Gesamtgebiet der prakt. Med. 1903. Würzburg 1902. Hubert.
- Über die Bindung von Präzipitin und Eiweiß im Tierkörper. Salkowski-Festschrift.
- Rothschild, Untersuchungen über die Guajakblutprobe. Berlin. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 18, 883.
- Roussin, Examen médico-légal des taches de sang. Ann. d'hyg. **23**, 139 (1865).
- Sachs, H., Über die komplementablenkende Funktion des normalen Serums. Zentralbl. f. Bakteriöl. Orig. **40**, 388. Münch. med. Wochenschr. 1904, 304. Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 18.
- Die Hämolyse und die zytotoxischen Sera. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse der path. Anat. 1907, 515. Kraus-Levaditis Handbl II, 2.
- Über die Konservierung präzipitierender Sera. Zweite Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908. Zentralbl. f. Bakteriöl. Ref. **42**, 1908. Beiheft.
- u. Bauer, Über die Differenzierung des Eiweißes in Gemischen verschiedener Eiweißarten. Arbeiten aus dem Kgl. Inst. f. exper. Ther. zu Frankfurt a. M. 1907, 3.
- W., Die Kohlenoxydvergiftung in ihrer klinischen, hygienischen und gerichtsarztlichen Bedeutung. Vieweg, Braunschweig 1909.
- Sanger, Biolog. test for blood from its medico-legal aspect. Diss.
- Sarda-Dusser, Obtention des cristaux d'hémine par les iodures et bromures alcalins. Paris 1908. Maloine.
- Schauenstein, Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Wien 1875.
- Schaefer, Neuere Beobachtungen über Blutnachweis mittelst der Guajakprobe. Arch. d. Pharm. 1898, 236, 571.

- Schlesinger u. Holst, Vergleichende Untersuchungen von Minimalblutungen in den Faeces nebst einer neuen Modifikation der Benzidinprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 36. Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 8.
- Schmidt, C., Die Diagnostik verdächtiger Flecke in Kriminalfällen. Mitau 1848.
- W. A., Die Erkennung von Blutflecken und die Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Quelle & Meyer, Leipzig 1909.
- Studien über Präzipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe. Biochemische Zeitschr. **14**, 3 u. 4.
- Über den Hemmungseinfluß (Bindungsfähigkeit) inaktivierten Präzipitins bei der Präzipitinreaktion. Folia serologica **1**, 393 (1908).
- Schmilinsky, Untersuchung über die Guajakprobe. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 49.
- Schmorl, Pathologisch-histologische Untersuchungsmethoden. Leipzig 1901. 2. Aufl.
- Schöfer, Blutspuren, von zerdrückten Wanzen herrührend. Wien. klin. Wochenschr. 1893, 643.
- Schönbein, Über das Verhalten des Blutes zum Sauerstoff. Journ. f. prakt. Chem. **89**, 22 (1863).
- Schroeder, Untersuchung über die Guajakprobe. Berlin. klin. Wochenschr. 1907, 43.
- Schüller, Der Nachweis von Pferdefleisch durch das biologische Verfahren. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene **19**, 2—3 (1908).
- Schulz, A., Über die Verwendbarkeit der von Siefert angegebenen Modifikation der Guajak-Wasserstoffsuperoxyd-Reaktion zum Nachweis von Blutspuren. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **22**, 104 (1901).
- Zum Kapitel des biologischen Blutnachweises. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902, Nr. 18.
- Das spektrale Verhalten des Hämatoporphyrins. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1904, Suppl.
- Über quantitativen Blutnachweis. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 1905. Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel **12**, 5 (1906).
- R., Zur Unterscheidung des Blutes auf Kohlenoxyd. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1895, 530.
- Schumm, Über den Nachweis von Kohlenoxyd im Blute. Med. Klinik 1908, Nr. 23.
- Zur Kenntnis der Benzidinprobe. Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 12.
- Klinische Spektroskopie. Fischer, Jena 1909.
- u. Westphal, Über den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adlerschen Benzidinprobe. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1905.
- Schur-Halberstamm, Über die praktische Verwertbarkeit der spezifischen Präzipitation. In Kolle u. Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1904, Bd. 4, S. 630.
- Schütz, Die plazentare Übertragung der natürlichen Immunität. Berlin. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 40, 1273.
- Schütze, Über ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der Eiweißstoffe verschiedener Milcharten. Zeitschr. f. Hyg. **36**, 38 (1901).
- Über die Unterscheidung von Menschen- und Tierblut mittelst der Wassermannschen Differenzierungsmethode. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 45; 1903, Nr. 62, 1904, 804. Festschr. f. v. Leyden. 1902.

- Schütze, Über den forensischen Wert des Neißer-Sachsschen Verfahrens der Komplementablenkung. Berlin. klin. Wochenschr. 1906, 1646.
- Experimenteller Beitrag zur Wassermannschen Serodiagnostik bei Lues. Berlin. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 5; 1906, Nr. 7. Med. Klinik 1906, Nr. 18.
- Schwalbe, Beitrag zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Wassermann-Schütze-Uhlenhuthschen Serumprobe auf Menschenblut. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902, Nr. 6.
- Selmi, Sulla fallacia del reattivo di van Deen per determinare le macchie di sangue. Mem. accad. di sci. del ist. di Bologna 1880, 295.
- Sick, Über die Herkunft und Wirkungsweise der Hämagglutinine. Deutsches Arch. f. klin. Med. 80, 1904.
- Siefert, Über die Verwendbarkeit der Guajak-Wasserstoffsuperoxydreaktion zum Nachweis von Blutspuren in forensischen Fällen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 16, 27 (1898).
- Sieradzki, Über sog. Hämatoxine und andere ihnen verwandte Körper. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 28.
- Da Silva-Aguiar, O exame medico-legal das manchas de sangue e o methodo de Uhlenhuth. Med. moderna 1902, 317.
- Sonnenschein, Über ein neues Reagens auf Blut und Anwendung desselben in der forensischen Chemie. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 17, 263 (1872).
- Über die Erkennung von Blutflecken in Kriminalfällen. Kühn, Berlin 1867.
- Spezia, Sulla reazione del van Deen. Gaz. med. lomb. 63, 337 (1904).
- Stern, Über den Nachweis menschlichen Blutes durch ein Antiserum. Deutsche med. Wochenschr. 1901, 9, 135.
- Stewart, American Journ. of Physiol. XI, 250.
- Stockis, Le diagnostic du sang humain en méd. lég. Ann. de la soc. méd. chir. de Liège, Mai 1901.
- Quelques recherches de police scientifique. T. II. Ann. Belg. 5, 395 (1908).
- Stoenesco, La différenciation du sang par le sérum spécifique. Ann. d'hyg. 96, 211 (1902).
- Stoll, Untersuchungen über postmortales Eindringen von Kohlenoxyd in den Körper. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 38, 46 (1909).
- Strabmann, Die Photographie im Dienste der gerichtlichen Medizin. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1903. Berichte über Vers.
- Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Enke, Stuttgart 1895.
- - Ziemke, Quantitative Blutuntersuchung. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 21, 211 (1901).
- - Schulz, Untersuchung zur Kohlenoxydvergiftung. Berlin. klin. Wochenschr. 1904, 48.
- Schulz, Marx, Bericht über das Neißer-Sachssche Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Klin. Jahrbuch 19, 1908.
- Strauch, Der serodiagnostische Nachweis von Menschenblut vor Gericht. Ärztl. Sachverst.-Ztg. 11, 429 (1905).
- Strube, Beiträge zum Nachweis von Blut und Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. 1902, 425.
- Struve, Beitrag zur gerichtlich-chemischen Untersuchung von verdächtigen Flecken auf Blut. Arch. f. path. Anat. 79, 524 (1880). Zeitschr. f. anal. Chem. 32, 174 (1893).
- Sutherland, Blood-Stains. Ballière, Tindal and Co., London 1907.
- Leers, Blutuntersuchung.

- S z i g e t i, Über die Anwendung von Karbolsäure beim Nachweis von Blutspuren. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 1896, 101, Suppl.
- T a k a y a m a, Beitrag zur Hämatoporphyrinprobe. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **29**, 232 (1905). Suppl.
- Beitrag zur Toxikol. und gerichtlichen Medizin. Stuttgart 1905.
- T a m a s s i a, Sulla determinazione cronologica delle macchie di sangue. Atti del R. ist. veneto di sci. lett. ed arti 1883—1884, 945.
- Valore delle granulazioni neutrofile dei globuli bianchi nella determinazione specifica del sangue. Gaz. med. lomb. 1894, Nr. 12.
- T a r c h e t t i, Di un nuovo metodo per differenziare il sangue umano da quello altri animali. Cron. di clin. med. **7**, 129 (1901). Gaz. degli ospedali 1901, 6.
- T a r u g i, Osservazioni e studi intorno alla reazione di van Decn. Gaz. chim. ital. 1903, 216.
- T a y l o r, On the guaiacum process for the detection of blood in medico-legal cases: the autozone test. Guy's hosp. rep. 1868, 431.
- On the processes for detecting blood medico-legal cases. Guy's hosp. rep. 1870, 273 u. 1874, 517.
- Principles and practice of medical jurisprudence. Smith, London 1904.
- T c h i s t o v i t c h, Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguilles. Ann. Inst. Pasteur 1899, 406.
- T c i c h m a n n, Über die Kristallisation des organischen Bestandteils des Blutes. Zeitschr. f. ration. Med. **3**, 375 (1853).
- T h o m a s, Beitrag zur Kenntnis der Hämatoporphyrinprobe. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **27**, 307 (1904).
- T h o m s e n, Über Anaphylaxie. Zeitschr. f. Immunitätsforschung **1**, 6, 741.
- T ö b b e n, Über den Nachweis der Bindung der Präzipitine im Tierkörper. Diss. Würzburg 1904.
- T r a s a b u r o A r a k i, Über den Blutfarbstoff und seine Umwandlungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 405 (1890).
- U h l e n h u t h, Zur Kenntnis der giftigen Eigenschaften des Blutserums. Zeitschr. f. Hyg. **26**, 384 (1897).
- Beiträge zum biologischen Eiweißnachweis. Deutsche med. Wochenschr. 1900, Nr. 46; 1901, Nr. 6, 17, 30; 1902, Nr. 37. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 8, 14; 1902, Nr. 37.
- Über eine neue forensische Methode zum Nachweis von Menschenblut. Groß' Archiv 1901 u. **10**, 1903.
- Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Festschr. f. Robert Koch (60. Geburtstag, 11. Dez. 1903). Naturforschervers. Breslau 1904, Meran 1905.
- Der forensische Blutnachweis. Fortschr. der Med. **3**, 1904. Wien. med. Wochenschr. 1904, Nr. 43.
- Ein neuer Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht. Korrespondenzbl. d. Deutschen anthropologischen Gesellsch. 1904, Nr. 10. Die Umschau 39.
- Über die Verwertbarkeit der Komplementablenkung für die forensische Praxis und die Differenzierung verwandter Blut- und Eiweißarten. Zentralbl. f. Bakteriöl. **38**, 1906. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 31, 51.
- Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschenblut und Tierblut usw. G. Fischer, Jena 1905.
- u. B e n n e r, Praktische Anleitung zur gerichtsarztlichen Blutuntersuchung mittelst der biologischen Methode. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1903, 185, 229.

- Uhlenhuth - Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Fischer, Jena 1909.
- Über Anaphylaxie. Zeitschr. f. Immunitätsforschung **1**, 6, 770.
- Vallée - Nicolas, Les sérums précipitants. Bull. de la soc. de méd. vét. **21**, 293.
- Verdier, La différenciation individuelle du sang humain. Thèse 1906. Toulouse.
- Vibert, De la possibilité de distinguer le sang de l'homme de celui des mammifères. Arch. de physiol. norm. et path. **9**, 48 (1882).
- Vincent, Le diagnostic médico-légal. Application de la méthode biologique. Ann. d'hyg. 1904, 44.
- Virchow, Über die forensische Untersuchung von trockenen Blutflecken. Arch. f. path. Anat. **12**, 334 (1857).
- Wachholz, Experimentelles zur Lehre von der Kohlenoxyd- und Leuchtgasvergiftung in gerichtsärztlicher Hinsicht. Zeitschr. f. Med.-Beamte **14**, 423 (1896). Desgl. Krakau 1896. Selbstverlag.
- Zum chemischen Nachweis von Kohlenoxydblut. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **18**, 255 (1899).
- Untersuchungen über Hämkristalle. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **22**, 227 (1901).
- Beitrag zur Lehre von der Dauer der Nachweisbarkeit von Kohlenoxyd im Blute überlebender Individuen. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **26**, 231 (1902).
- Zur Kohlenoxydvergiftung. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **31**, 1906, Suppl. Schmidtmanns Handbuch der gerichtl. Med. 1905. Hirschwald, Berlin.
- u. Lemberger, Experimentelles zur Lehre von der Kohlenoxydvergiftung. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **26**, 223 (1902).
- Walter, Zur Vereinfachung des chemischen Blutnachweises mittels Benzidin. Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 3. Vereinsbeil.
- Wassermann, Über das biologische Eiweißdifferenzierungsverfahren. Bericht über Verhandl. des V. internat. Congr. f. angew. Chem. 1903. Berlin.
- Über Agglutinine und Präzipitine. Zeitschr. f. Hyg. **42**, 227 (1903).
- Gibt es ein biologisches Blutdifferenzierungsverfahren für Menschen- und Tierblut mittels der Präzipitine? Deutsche med. Wochenschr. 1904, 416, 694.
- u. Schütze, Neue Beiträge zur Kenntnis der Eiweißstoffe verschiedener Milcharten. Deutsche med. Wochenschr. 1900, 178. Beil.
- — Über eine neue forensische Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Berlin. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 7, 187.
- — Über die Spezifität der Eiweißpräzipitinsera und deren Wertbemessung für die Praxis. Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 27; 1903, Nr. 11.
- Weichardt, Weiterer Beitrag zur Frage des biologischen Blutnachweises. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 25, 1077. Zeitschr. f. Med.-Beamte **20**, 733 (1902).
- Der Nachweis individueller Blutdifferenzen. Hygien. Rundschau 1903, Nr. 15, 756. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **29**, 19 (1905).
- Weidanz, Konservierung präzipitierender Sera. Zentralbl. f. Bakteriologie **42** (1908). Beiheft.
- Zur Technik der sterilen Filtration. Zentralbl. f. Bakteriologie **46**, 6 (1908).
- Zur Technik und Methodik der biologischen Eiweißdifferenzierung. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **37**, 1909, Suppl. 2.

- W e i d e n r e i c h , Über die Form der Säugererythrozyten und die formbestimmenden Ursachen. Fol. haematol. **2**, 95 (1905). Arch. f. mikr. Anat. **61**, 1902. Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsgesch. **13**, 1903.
- W e l c k e r , Blutfleckenskala. Ricker, Gießen 1854.
- W e t z e l - K u n k e l , Würzburger Sitzungsbericht, 28. April 1888, 86.
- W e l s h u. C h a p m a n , Precipitin antisera and their standardisation. Journ. of hyg. **6**, 3 (1906).
- W h i t n e y , The test serum in rabbits. Boston med. and surg. journ. **146**, 1902 und Med.-leg. journ. New York 1903, 33.
- W i e h r , Beitrag zur Erkennung von Blutflecken auf leinenen und baumwollenen Zeugen. Arch. der Pharm. **78**, 21 (1854).
- W o l f f , Über den jetzigen Stand des serodiagnostischen Verfahrens usw. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1902. Versamlungsbericht.
- W o o d , Medico-legal examination of blood-stains. Boston med. and surg. journ. **145**, 533 (1901).
- The serum test for blood. Med.-leg. journ. New York 1903, 27.
- Z a h n , Die Anwendung des Wasserstoffdioxyds zum Nachweis von Blutflecken. Korrespondenzbl. f. Schweizer Ärzte **1**, 322 (1871).
- Z a n g g e r , Über die Funktionen des Kolloidzustandes bei den Antikörperreaktionen. Zentralbl. f. Bakteriologie. I. Ref. **36**, 225 (1905).
- Z a n e l l i , Sulla possibilità di riconoscere mediante i cristalli di emina, la presenza del sangue in tessuti di varia natura dopo i lavaggi saliti della pratica comune. Atti del R. ist. veneto di sci. lett. ed arti **4**, 425 (1885—1886).
- Z i e g l e r , Die Serumdiagnose verschiedener Blutarten und ihre Bedeutung für die forensische Medizin. Zentralbl. f. Path. 1902, 545.
- Z i e m k e , Die neuen Methoden des forensischen Blutnachweises. Zeitschr. f. Med.-Beamte 1900. Ber. über Vers.
- Zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut mit Hilfe eines spezifischen Serums. Deutsche med. Wochenschr. 1901, 424, 731.
- Über den Wert des alkalischen Hämatoporphyrins für den forensischen Blutnachweis Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **22**, 231 (1901).
- Über die ungleiche Resistenz des Blutfarbstoffes verschiedener Tiere gegen Alkalien und eine hierauf gegründete Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. **22**, 77 (1901).
- - M ü l l e r , Beiträge zur Spektroskopie des Blutes. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1901.

Tafeln

Tafelerklärung.

Tafel I.

- Fig. 1. Kerndarstellung der Vogelblutkörperchen mittels 2 proz. Essigsäure. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 81.
- Fig. 2. Typische rhombische und atypische hanfsamenförmige T e i c h - m a n n s c h e Häminkristalle. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 32.
- Fig. 3. Hämochromogenkristalle aus blutgetränkter Erde, gekreuzt, in Sternform und Drusen. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 37.
- Fig. 4. Hämochromogenkristalle aus blutigem Leinen. Große, weinrotgefärbte Rhomben, nach L e c h a M a r z o dargestellt. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 38.
- Fig. 5. Rostformationen im reflektierten Licht nach F l o r e n c e. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 86.
- Fig. 6. Isoagglutination meiner Blutkörperchen durch menschliches Blutserum S. Vergrößerung 350 fach. Zu Seite 95.

Tafel II.

- Fig. 1. Hämochromogenkristalle, aus dem Mikroskop gemalt, um ihre Farbe zu zeigen. Vergrößerung 600 fach. Zu Seite 37.
- Fig. 2. Die Pyridinprobe: a) Die Schicht des blutfarbstoffbeladenen Pyridins. b) Die Schicht der Korpuskeln. c) Die Schicht der Kalilauge. d) Objekt. Zu Seite 65.
- Fig. 3. Die CO-Probe nach W a c h h o l z - S i e r a d z k y - R e e t z, 8 Monate nach ihrer Anstellung. a) CO-Blut. b) O-Blut. Zu Seite 73.
- Fig. 4. Die CO-Probe nach K u n k e l - S c h u l z, 24 Stunden nach ihrer Anstellung. a) CO-Blut. b) O-Blut. Zu Seite 73.

Praktische Anleitung zur Syphilisdiagnose auf biologischem Wege. (Spirochaeten-Nachweis, Wassermannsche Reaktion.)
Von Dr. P. Mulzer. Mit 19 Textabbildungen und 4 Tafeln.

Preis M. 3,60; in Leinwand gebunden M. 4,40.

Die Serodiagnose der Syphilis. Von Dr. Carl Bruck, Privatdozent und Oberarzt der Dermatologischen Universitätsklinik in Breslau.

Preis M. 4,80.

Das Mikroskop und seine Anwendung. Handbuch der praktischen Mikroskopie und Anleitung zu mikroskopischen Untersuchungen. Von Dr. Hermann Hager. Nach dem Tode des Verfassers vollständig umgearbeitet und in Gemeinschaft mit Dr. O. Appel, Dr. G. Brandes und Prof. Dr. Th. Lochte neu herausgegeben von Dr. Carl Mez, Professor der Botanik an der Universität Halle. Zehnte, stark vermehrte Auflage. Mit 463 Textfiguren.

In Leinwand gebunden Preis M. 10,—.

Mikroskopie und Chemie am Krankenbett. Für Studierende und Ärzte bearbeitet von Professor Dr. Hermann Lenhartz, Direktor des Eppendorfer Krankenhauses in Hamburg.

Sechste, wesentlich umgearbeitete Auflage erscheint im Frühjahr 1910.

Preis in Leinwand gebunden M. 9,—.

Spektroskopie. Von E. C. C. Baly. Autorisierte deutsche Ausgabe von Prof. Dr. Richard Wachsmuth (Frankfurt). Mit 158 Textfiguren. Preis M. 12,—; in Halbfranz gebunden M. 14,50.

Biochemie. Ein Lehrbuch für Mediziner, Zoologen und Botaniker.
Von Dr. F. Röhmnn, a. o. Professor an der Universität und
Vorsteher der chemischen Abteilung des Physiologischen Instituts
zu Breslau. Mit 43 Textfiguren und 1 Tafel.

In Leinwand gebunden Preis M. 20,—.

Methode der Zuckerbestimmung. Von Dr. med. Ivar Bang,
o. Professor der medizinischen Chemie an der Universität Lund.
Preis M. —,50. 10 Exempl. bei portofreier Zusendung M. 4,—.

Die Untersuchung und Beurteilung des Wassers und des Abwassers. Von Geh. Regierungsrat Dr. Ohlmüller und Regierungsrat Prof. Dr. Spitta, Vorsteher des Hygienischen Laboratoriums im Kaiserlichen Gesundheitsamt. Ein Leitfaden für die Praxis und zum Gebrauch im Laboratorium. Dritte, gänzlich neu bearbeitete und veränderte Auflage. Mit 80 Textabbildungen und 7 z. T. mehrfarbigen Tafeln. Erscheint im Frühjahr 1910.

In Leinwand gebunden Preis ca. M. 15,—.

Leitfaden für Desinfektoren in Frage und Antwort. Von Dr. Fritz Kirstein, Kreisarzt des Stadtkreises Stettin-Ost und Vorsteher des Kgl. Medizinal-Untersuchungsamtes in Stettin. Vierte, vollständig umgeänderte und vermehrte Auflage.

In Leinwand gebunden Preis M. 1,40, durchschossen M. 1,60.

Hygienisches Taschenbuch für Medizinal- und Verwaltungsbeamte, Ärzte, Techniker und Schulmänner. Von Dr. Erwin von Esmarch, o. ö. Professor der Hygiene an der Universität Göttingen. Vierte, vermehrte und verbesserte Auflage.

In Leinwand gebunden Preis M. 4,—.

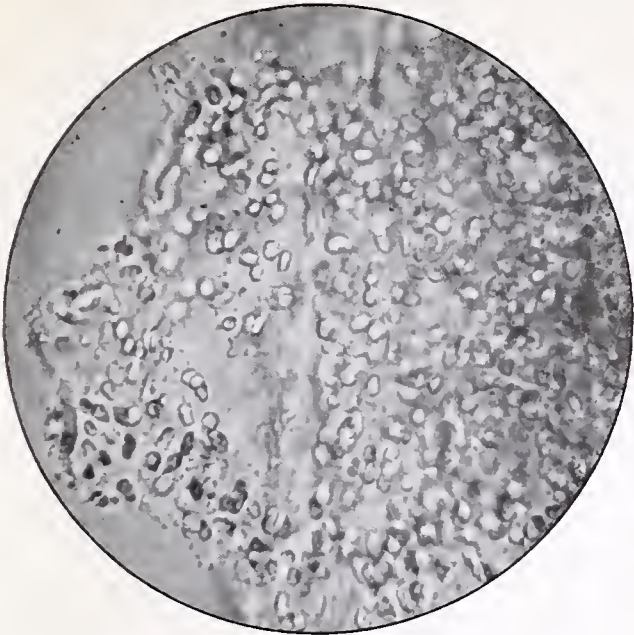


Fig. 1.

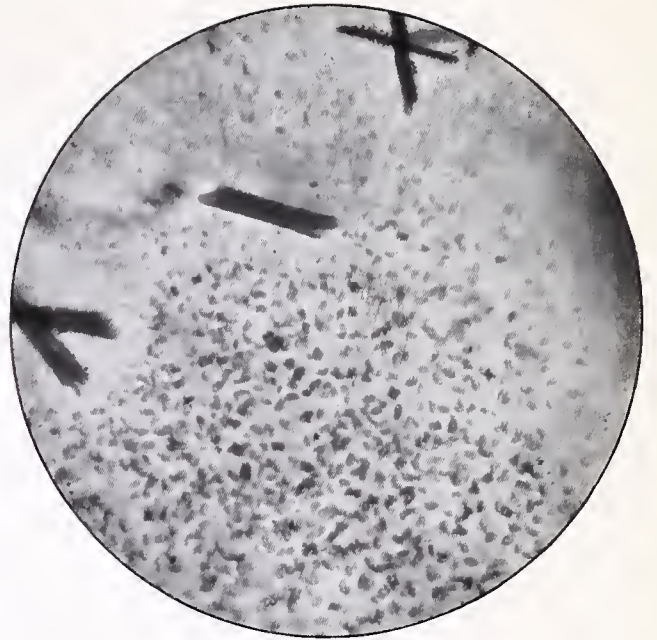


Fig. 2.

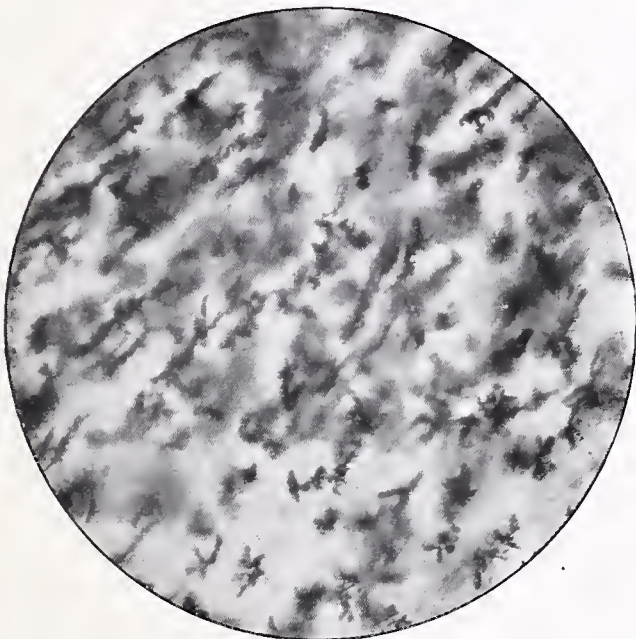


Fig. 3.

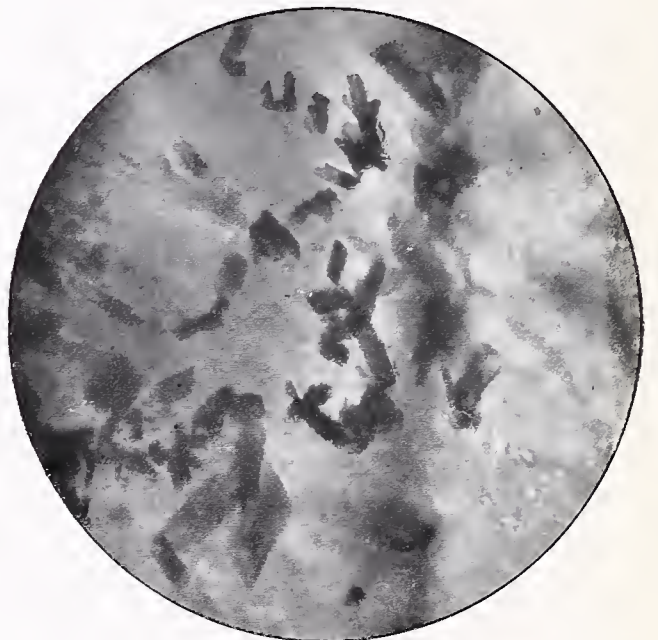


Fig. 4.

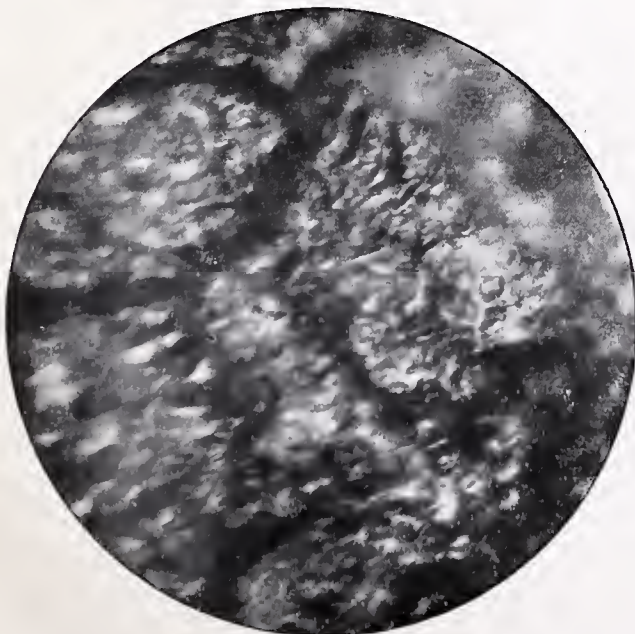


Fig. 5.

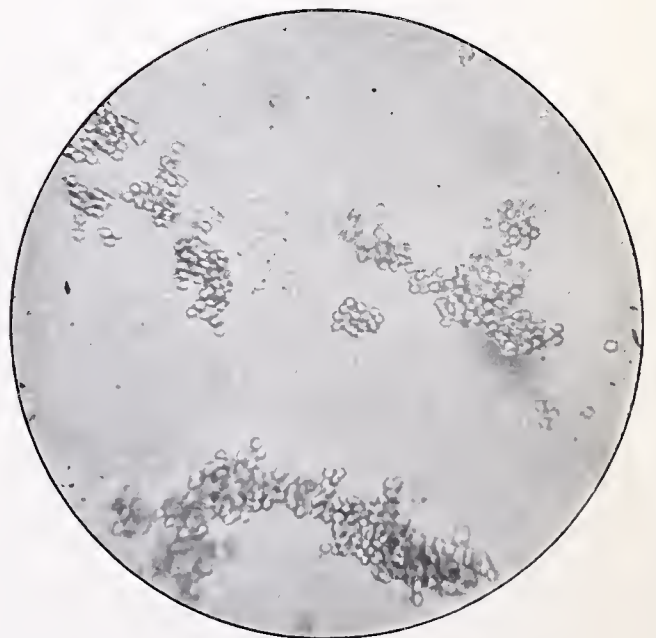


Fig. 6.

